

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DAYANE ALBUQUERQUE DA SILVA

ADITIVO SIMBIÓTICO EM DIETAS PARA AVES POEDEIRAS NA FASE DE CRIA

RECIFE

2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

DAYANE ALBUQUERQUE DA SILVA

ADITIVO SIMBIÓTICO EM DIETAS PARA AVES POEDEIRAS NA FASE DE CRIA

RECIFE

2021

DAYANE ALBUQUERQUE DA SILVA

ADITIVO SIMBIÓTICO EM DIETAS PARA AVES POEDEIRAS NA FASE DE CRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Zootecnia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Coorientadores: Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento

Prof. Dr. Marcos José Batista dos Santos

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586dasa Silva, Dayane Albuquerque da
Aditivo simbiótico em dietas para aves poedeiras na fase de cria / Dayane Albuquerque da Silva. - 2021.
71 f. : il.
- Orientador: Carlos Bôa-Viagem Rabello.
Coorientador: Júlio César dos Santos Nascimento e Marcos José Batista dos Santos.
Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,
Recife, 2021.
1. Avicultura. 2. Aditivo. 3. Simbiótico. 4. Bacitracina de Zinco. 5. Fase inicial. I. Rabello, Carlos Boa-Viagem,
orient. II. Nascimento, Júlio César dos Santos e Santos, Marcos Jose Batista dos, coorient. III. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ADITIVO SIMBIÓTICO EM DIETAS PARA AVES POEDEIRAS NA FASE DE CRIA

Dissertação elaborada por

DAYANE ALBUQUERQUE DA SILVA

Aprovado em 26/02/2021

BANCA EXAMINADORA

Carlos Bôa-Viagem Rabello

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Lilian Arantes

Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Claudson Oliveira Brito

Prof. Dr. Claudson Oliveira Brito
Universidade Federal de Sergipe

BIOGRAFIA DA AUTORA

DAYANE ALBUQUERQUE DA SILVA, filha de Elias Antonio da Silva e Edilma Albuquerque dos Santos Silva, nasceu em Olinda, Pernambuco, em 30 de abril de 1995. Ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia no segundo semestre do ano de 2013, na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Estagiou na empresa Mauricéa Alimentos do Nordeste LTDA em abril de 2018 a julho do mesmo ano. Em novembro de 2018 concluiu o curso de Zootecnia obtendo o título de Zootecnista em janeiro de 2019. Em março de 2019, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, concentrando seus estudos na área de Produção de Não-Ruminantes, tendo, em fevereiro de 2021, submetido à defesa a presente dissertação.

RESUMO O estudo avaliou os efeitos da suplementação do simbiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, Glucanos e Mananos na alimentação de galinhas poedeiras na fase de cria em substituição ao antibiótico bacitracina de zinco. Foram utilizadas 1040 pintainhas, da linhagem Dekalb White de 1 a 5 semanas de idade, distribuídas em DIC com 4 tratamentos e 10 repetições de 26 aves. Os tratamentos foram compostos de duas dietas bases: a primeira composta por milho e farelo de soja (RR); a segunda idem a primeira com adição de farinha de carne e ossos (FCO); e mais duas dietas à base da FCO, uma dieta com adição de 0,05% do aditivo Bacitracina de Zinco (Bac Zn), e outra com adição de 0,1% do aditivo Simbiótico (Simb-C). Foram realizadas avaliações de desempenho, hematologia, bioquímica sérica, peso dos órgãos do sistema imunológico (timo, baço e bursa de fabricius), digestório (fígado, pâncreas e intestino) e mensuração do comprimento (intestino e cecos). As variáveis foram analisadas pelo programa SAS sendo as médias comparadas pelo teste de Contraste Ortogonal ($P \leq 0,05$). Os contrastes consistiram em C1: RR vs FCO; C2: FCO vs Bac Zn; e C3: Bac Zn vs Simb-C. Dos 14 aos 35 dias de idade as aves alimentadas com a dieta RR obteve desempenho menor em comparação à FCO, da mesma forma a FCO foi menor quando comparada a dieta Bac Zn. De 1-14 e 1-21 dias o desempenho das aves que consumiram o simbiótico foi maior que as aves suplementadas com a bacitracina, sendo ambas iguais a partir de 28 dias até o final da fase. Foi observado efeito nos contrastes RR vs FCO para o peso de fígado e comprimento de ceco, e nos contrastes Bac Zn vs Simb-C para peso de fígado e bursa. As aves alimentadas com RR apresentaram maior peso de fígado e maior comprimento de ceco. Já as pintainhas alimentadas com Simb-C apresentaram menor peso para o fígado e bursa. As variáveis de bioquímica sérica apresentaram diferença estatística para fosfatase alcalina e glutamil transferase para todas as comparações, onde a RR apresentou maiores valores de ambas variáveis em comparação a FCO, ao inserir os aditivos às dietas, os valores destas variáveis diminuíram consideravelmente, no qual o grupo Bac Zn apresentou menor valor para a fosfatase, e o grupo Simb-C apresentou menor valor para a glutamil. Para a creatinina as aves do grupo RR apresentaram menor valor em comparação a FCO, e o grupo FCO obteve menor valor quando comparada a Bac Zn. A dieta Bac Zn apresentou maior valor para globulina e menor valor para ureia quando comparada a Simb-C. Estes resultados são reflexos da modulação benéfica da microbiota por meio do uso de aditivos promotores de crescimento. Por meio dos resultados obtidos, o simbiótico se mostrou como um possível substituto da Bacitracina de Zinco, sem depreciar o desempenho das aves na fase cria.

Palavras-chaves: fase inicial, prebiótico, probiótico, poedeiras, suplementação.

ABSTRACT The study evaluated the effects of supplementation of symbiotic based on *Saccharomyces cerevisiae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, Glucans and Mannans in the feed of laying hens in the rearing phase as a replacement for the antibiotic zinc bacitracin. A total of 1040 chicks of the Dekalb White strain, 1 to 5 weeks of age, were used, distributed in DIC with 4 treatments and 10 repetitions of 26 birds. The treatments were composed of two base diets: the first composed of corn and soybean meal (RR); the second, identical to the first, with added meat and bone meal (MBM); and two other MBM-based diets, one with added 0.05% of the additive zinc bacitracin (Bac Zn), and the other with added 0.1% of the symbiotic additive (Simb-C). Performance, hematology, serum biochemistry, the weight of the immune system organs (thymus, spleen and bursa of fabricius), digestive (liver, pancreas and intestine) and length measurement (intestine and cecum) was evaluated. Variables were analyzed by the SAS program and means were compared using the Orthogonal contrast test ($P \leq 0.05$). The contrasts consisted of C1: RR vs FCO; C2: FCO vs Bac Zn; and C3: Bac Zn vs Simb-C. From 14 to 35 days of age, birds fed the RR diet had lower performance compared to FCO, similarly FCO was lower compared to the Bac Zn diet. From 1–14 and 1–21 days of age, the performance of birds fed the symbiotic were higher than that of birds supplemented with bacitracin, and both were equal for 28 days until the end of the phase. An effect was observed in the RR vs FCO contrasts for liver weight and cecum length, and in the Bac Zn vs Simb-C contrasts for liver and bursa weight. Chicks fed RR had higher liver weight and increased cecal length. Chicks fed Simb-C had lower liver and bursa weights. The serum biochemistry variables presented statistical difference for alkaline phosphatase and glutamyl transferase for all comparisons, where RR presented higher values of both variables compared to FCO, when additives were added to the diets, the values of these variables decreased considerably, in which the Bac Zn group presented lower value for phosphatase, and the Simb-C group presented lower value for glutamyl. For creatinine, the birds in the RR group showed the lowest value compared to the FCO, and the FCO group had the lowest value compared to Bac Zn. The Bac Zn diet showed a higher value for globulin and lower value for urea compared to Simb-C. These results reflect the beneficial modulation of microbiota by using growth-promoting additives. Through the results obtained, the symbiotic showed itself as a possible substitute for zinc Bacitracin, without depreciating the performance of the birds in the rearing phase.

Key words: early stage, prebiotic, probiotic, layers, supplementation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág
Figura 1. Variações médias de temperatura (T, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) durante o período experimental.....	45

LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1. Principais habitats bacterianos e sua concentração nos segmentos do TGI das aves.....	21
Tabela 2. Antimicrobianos proibidos como melhoradores de desempenho e alguns aditivos equilibradores de microbiota intestinal aprovados no uso na alimentação animal.....	25
Tabela 3. Composição das dietas experimentais.....	47
Tabela 4. Níveis de garantia por quilograma do simbiótico.....	48
Tabela 5. Dados de desempenho acumulado de aves poedeiras comerciais Dekalb White de 1 a 35 dias de idade.....	50
Tabela 6. Peso (g) e comprimento (cm) dos órgãos de aves poedeiras comerciais Dekalb White aos 35 dias de idade.....	52
Tabela 7. Variáveis hematológicas de aves poedeiras comerciais Dekalb White aos 35 dias de idade.....	53
Tabela 8. Variáveis de bioquímica sérica de aves poedeiras comerciais Dekalb White aos 35 dias de idade.....	54

LISTA DE ABREVIACOES

% - Porcentagem

°C – Graus celsius

μ - Constante média

AGCC – Ácidos Graxos de Cadeia Curta

ALB – Albumina

Bac Zn – Bacitracina de Zinco

BÇO – Baço

BIOPA – Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal

BSA – Bursa

C1 – Contraste 1

C2 – Contraste 2

C3 – Contraste 3

CA – Conversão alimentar

CCECO – Comprimento de ceco

CID – Comprimento de intestino delgado

cm – centímetros

CO₂ – Gás carbônico

CR – Consumo de ração

CREA – Creatinina

dl – decilitro

Eij – Termo de erro aleatório

EM – Energia Metabolizável

EUA – Estados Unidos da América

FA – Fosfatase Alcalina

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

FCO – Farinha de carne e ossos

FDA – Food and Drug Administration

FGD – Fígado

FOS – Frutooligossacarídeos

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

FTU - Unidade de Turbidez Formazina

g – Grama

GF2 – 1-Kestose

GF3 – Nistose

GF4 – Frutofurasonil nistose

GGT – Glutamil transferase

gl – Grau Lussac

GLOB – Globulina

GP – Ganho de peso

HCl – Ácido clorídrico

HEM – Hemácias

HEMO – Hemoglobina

HS – Estresse térmico cíclico

HSD – Alta densidade de estocagem

ID – Intestino delgado

IG – Intestino grosso

IgA – Imunoglobulina A

ISAPP – Associação Científica Internacional para Probiótico e Prebiótico

IT – Intestino

Kcal – Quilocaloria

kg – quilograma

KUI – Unidades internacionais

L – Litro

LAB's – Bactérias ácido lácticas

LADA – Laboratório de Diagnostico em Microbiologia

LAPAVE – Laboratório de pesquisa com aves

LET – Leucócitos

LINF – Linfócitos

Máx – Máxima

mg – Miligrama

Mín – Mínimo

ml – Mililitro

mm – Milímetro

MON – Monócitos

MOS – Mananligossacarídeos

NaCl – Cloreto de Sódio

P – *p-value*

PAM – Peptídeos antimicrobianos

PC – Peso corporal

PLAQ – Plaquetas

PNC – Pâncreas

PPT – Proteínas plasmáticas totais

PTNT – Proteínas Totais

Px min – Premix mineral

Px vit – Premix vitamínico

RR – Ração referência

SE – *Salmonella enteritidis*

SEM – Erro padrão da média

Simb – C – Simbiótico

spp. – Todos os gêneros

T – Temperatura

T1 – Tratamento um

T2 – Tratamento dois

T3 – Tratamento três

T4 – Tratamento quatro

TGI – Trato gastrointestinal

TGO – Amino transferase

ti – Efeito da dieta

TIM – Timo

U - Unidade

UE – União Europeia

UFC – Unidade formadora de colônias

UI – Unidades internacionais

und – Unidade

UR – Umidade relativa do ar

vit - Vitamina

vs – Versus

WHO – World Health Organization

XOS – Xilooligossacarídeos

yij – Observação

α – Alfa

β - Beta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Microbiota gastrointestinal das aves	18
2.1.1. Desenvolvimento da microbiota residente	18
2.1.2. Micro habitats da microbiota residente	20
2.2. Aditivos equilibradores de microbiota intestinal	23
2.2.1. Bacitracina de zinco	24
2.3. Prebiótico	26
2.3.1. Definição e fontes	26
2.3.2. Mecanismo de ação	28
2.4. Probiótico	31
2.4.1. Definição	31
2.4.2. Mecanismo de ação e fontes	32
2.4.3. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	33
2.4.4. <i>Bifidobacterium bifidum</i>	35
2.4.5. <i>Bacillus subtilis</i>	36
2.4.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	39
2.4.7. <i>Enterococcus faecium</i>	40
2.5. Simbiótico	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1. Local experimental e comitê de ética	44
3.2. Animais e delineamento experimental	44
3.3. Alojamento e manejo das aves	45
3.4. Dietas experimentais	46
3.5. Análise microbiológica	46
3.6. Avaliação de desempenho zootécnico	46
3.7. Coleta sanguínea	46
3.8. Abate e peso de órgãos	49
3.9. Estatística	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1. Resultado de desempenho	49
4.2. Resultado de mensurações de órgãos	52
4.3. Resultado de variáveis sanguíneas	52

4.4. Discussão	55
5. CONCLUSÃO.....	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1 1. INTRODUÇÃO

2 O adensamento de aves em sistema de produção intensivo resultou em problemas
3 relacionados à sanidade aviária (Marchewka et al., 2020) em função do aumento de desafios
4 sanitários, revelando a necessidade da utilização de antimicrobianos em doses subterapêuticas
5 capazes de modular a resposta imunológica reduzindo a suscetibilidade às enfermidades (Kelley
6 et al., 1998; Miranda et al., 2008). Entretanto, o uso contínuo de antibióticos elevou a incidência
7 de resistência bacteriana em animais e humanos quando há contato com produtos de origem
8 animal e/ou subprodutos da produção contaminados por bactérias resistentes ou por resíduos de
9 medicamentos.

10 Deste modo, órgãos mundiais (WHO, 1997; UE, 2006 – citado por Castanon, 2007) e
11 nacional (BRASIL, 2020) baniram o uso de alguns antibióticos utilizados como promotores de
12 crescimento, como exemplo no Brasil, medicamentos à base de tilosina, lincomicina, e
13 tiamulina, classificados como importantes na medicina humana. Entretanto, as aves ainda
14 continuam submetidas em ambientes desafiados, tornando impossível a isenção de compostos
15 na dieta que modulem a microbiota intestinal (Toledo et al., 2007), e conseqüentemente a
16 digestibilidade e absorção dos nutrientes da ração (Matur et al., 2010; Feitosa et al., 2020).

17 Alternativas vem sendo estudas, com a finalidade de substituir os antibióticos por
18 produtos comensais que não provoquem resistência bacteriana, dentre estas alternativas estão
19 os simbióticos. O simbiótico é um composto originado da união de prebióticos e probióticos,
20 que possui efeito sobre a saúde intestinal promovendo melhorias no desempenho através do
21 mecanismo de ação de seus componentes (Mohammed et al., 2019).

22 Quando fornecidos as aves por meio da dieta, os componentes do simbiótico modulam
23 a microbiota residente assim como as funções do trato gastrointestinal (TGI) por meio da
24 diminuição do pH luminal, tornando o meio propício à proliferação de cepas benéficas que
25 estimularão a produção de enzimas pancreáticas otimizando o aproveitamento dos nutrientes
26 da dieta favorecendo o desempenho animal (Kuritzin et al., 2014; Al-Khalaifah, 2018; Forte et
27 al., 2018).

28 A fase inicial das pintainhas é preocupante por estas apresentarem TGI em processo de
29 evolução e microbiota imatura (Al-Khalaifah, 2018; Feitosa et al., 2020) em ambientes de alto
30 adensamento, tornando-as susceptíveis a doenças ocasionadas por disbiose através da produção

31 de toxinas bacterianas e infecções intestinais (Surgiharto, 2016; Abou-Kassem et al., 2020).
32 Desta forma, a utilização de compostos que beneficiem cepas bacterianas benéficas que
33 auxiliam no crescimento saudável e aproveitamento de compostos nutritivos na dieta é
34 indispensável em ambientes desafiados.

35 Várias pesquisas demonstram os benefícios deste composto – prebióticos e probióticos
36 (Vasconcelos et al., 2016; Zheng et al., 2016; Wu et al., 2019; Ricke et al., 2020), porém não
37 há resultados conclusivos para poedeiras na fase de cria (1 – 35 dias de idade), por isso o
38 objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do uso de aditivo simbiótico (*Saccharomyces*
39 *cerevisiae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus*
40 *acidophilus*, Glucanos e Mananos) na alimentação de galinhas poedeiras na fase de cria em
41 substituição ao antibiótico bacitracina de zinco.

42 2. REVISÃO DE LITERATURA

43 2.1. Microbiota gastrointestinal das aves

44 2.1.1. Desenvolvimento da microbiota residente

45 A microbiota gastrointestinal residente é o conjunto de microrganismos (bactérias,
46 protozoários, fungos e/ou leveduras) presente no trato gastrointestinal que vivem em equilíbrio,
47 se tornando comensais e/ou mutualísticas. A microbiota desempenha papel fundamental na
48 manutenção da saúde intestinal e influência o desempenho das aves através da modulação do
49 sistema imune, digestão de nutrientes e regulação da função intestinal (Macari, 2014; Khan et
50 al., 2020), por isso a importância de compreender as cepas residentes, suas modulações, seus
51 metabólitos e sua forma de atuação no trato digestivo.

52 Em maioria, os estudos de mapeamento da microbiota intestinal das aves foram
53 estabelecidos com pesquisas realizadas em frango de corte de crescimento lento e rápido, sendo
54 poucas pesquisas com poedeiras. Apesar de serem da mesma espécie, as linhagens de aves
55 poedeiras possuem microbiota distinta por divergirem na fisiologia, metabolismo de nutrientes,
56 demanda energética e longevidade (Khan et al., 2020). Entretanto, o microbioma central – filo
57 *Firmicutes* e *Proteobacteria* – em ambas linhagens são comuns, variando a população de
58 algumas espécies devido às particularidades da fisiologia da ave (Ocejo et al., 2019). Apesar
59 dos estudos já desenvolvidos, ainda não foi mapeado toda a microbiota das aves.

60 A colonização do trato gastrointestinal (TGI) pode começar antes ou após a eclosão dos
61 ovos, isso depende de alguns fatores, como o manejo sanitário e saúde das matrizes, e

62 higienização do incubatório. As aves podem entrar em contato com cepas bacterianas desde o
63 desenvolvimento embrionário, contaminando o ovo antes da oviposição (contaminação
64 vertical) ou após (contaminação horizontal) (Macari, 2014).

65 A contaminação vertical ocorre por haver cepas que sobrevivem no sêmen ou na cloaca
66 por ter presença de bactérias nesta área e por cepas patogênicas que conseguem atingir níveis
67 sistêmicos e que se alojam em órgãos como o baço, fígado, ovários e oviduto podendo levar a
68 carga bacteriana para o interior dos ovos, como exemplo desta contaminação temos a
69 *Salmonella enterica* (Gast et al., 2020). Essa contaminação sistêmica se dá pela sobrevivência
70 intracelular da bactéria nos macrófagos das aves, aderência à mucosa do trato reprodutivo e
71 invasão de células da granulosa ovariana (Babu et al., 2016).

72 Em contrapartida, a via horizontal necessita do contato direto dos ovos com o meio
73 contaminado por microrganismos, que se proliferam na superfície da casca e no interior dos
74 ovos por adentrarem através dos poros da casca (Van Goor et al., 2020).

75 Então ao eclodir, as aves já possuem carga bacteriana provinda da mãe e do ambiente
76 (aviário, incubatório, entre outros) no qual o ovo foi exposto. Estas colônias microbianas
77 conseguem se desenvolver e amadurecer com a exposição contínua a rações, água, cama,
78 insetos, poeira e tratadores, pois inicialmente as cepas são imaturas e apresentam baixa
79 diversidade (Macari, 2014). A microbiota residente é influenciada pelas vias de contaminação,
80 o que torna cada ave diferente entre si.

81 Após a eclosão a diversidade microbiana é representada por bactérias Gram-negativas,
82 em particular da família *Enterobacteriaceae*, que inclui as principais cepas patogênicas, como
83 *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus* e *E. coli* (Macari, 2014; Ballou et al., 2016). Ainda na primeira
84 semana, há uma mudança gradual para uma comunidade mais diversificada composta de
85 bactérias Gram-positivas, resultando em uma proporção menor de Gram-negativas, no qual o
86 trato digestivo é colonizado por cepas pertencentes a ordem *Clostridiales*, o que inclui os
87 *Clostridium* (Ballou et al., 2016). Os *Ruminococcus* e *Lactobacillus*, também passam a
88 colonizar o trato (Macari et al., 2014). Contudo, pode-se afirmar presença das espécies
89 pertencentes a *Clostridiales*, *Firmicutes*, *Proteobacterias*, *Enterococcus* e *Streptococcus*
90 (Macari, 2014; Ocejo et al., 2019).

91 Após a primeira semana de vida, o período que compreende de 14 à 28 dias, é
92 considerado de maturação microbiana, pois é neste período que haverá mudanças na microbiota
93 podendo ser colonizadas novas cepas, assim como a diminuição e/ou extinção de outras
94 (Macari, 2014; Ballou et al., 2016). Neste cenário de maturação do TGI e da comunidade
95 microbiana, as cepas que permanecem são as relacionadas a *Clostridiales*, *Lactobacillus* e
96 *Proteobacterias*, surgindo novas pertencentes à *Bacteroides*, *Eubacterium* e *Fusobacterium*. Só
97 após esse período considera-se que a microbiota atingiu a maturidade (Macari, 2014; Ocejo et
98 al., 2019) e sendo considerada estável só após 49 dias (Al-Khalaifah, 2018; Feitosa et al., 2020).

99 **2.1.2. Micro habitats da microbiota residente**

100 O TGI das aves é composto de bico, inglúvio, proventrículo, ventrículo/moela, intestino
101 delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (ceco, colón e cloaca) (Yadav e Jha, 2019).
102 Em cada porção do trato há populações microbianas distintas (Tabela 1) devido as diferenças
103 na morfologia, funcionalidade, interações metabólicas e microambiente de cada segmento
104 (Macari, 2014). Mas em geral espécies microbianas comumente encontradas no TGI das aves
105 pertencem aos gêneros *Lactobacillus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Eubacterium sp.*, *Clostridium sp.*,
106 *Escherichia coli*, *Streptococcus sp.*, *Prevotella sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Selenomonas sp.*,
107 *Megasphaera sp.* e *Bifidobacterium sp.* (Yadav e Jha, 2019).

108 Desde o inglúvio até a cloaca há colonização e proliferação de cepas que pertencem a
109 microbiota residente. As regiões proximais por terem pH mais ácidos é normal que haja a
110 predominância de cepas tolerantes a essas condições, como é o caso de bactérias ácido-láticas,
111 como exemplo os *Lactobacillus*, que chegam a colonizar esses segmentos em até 100%,
112 decaindo a população ao longo do trato (Macari, 2014; Christofoli et al., 2020). No inglúvio,
113 podemos encontrar a presença da cepa *L. salivarius* e no estômago *L. aviarius* (Macari, 2014).

114 Apesar dessa predominância nas regiões proximais do trato digestivo, as cepas ácido-
115 láticas não apresentam tanta eficácia no inglúvio por conta da ausência de mastigação, mas
116 ainda há indícios de pequena atividade fermentativa que chegam a hidrolisar o amido (Macari,
117 2014).

118 No proventrículo, devido à secreção de ácidos e enzimas, a atividade microbiana chega
119 a ter maior efetividade, entretanto a baixa permanência do bolo alimentar no segmento não
120 permite maiores atividades. Quanto ao ventrículo pode-se notar maior ação das enzimas

121 microbianas devido a moagem das partículas, proporcionando maior contato entre as partículas
 122 e as enzimas. Além desta atividade há uma contribuição de proteína, que será aproveitado nos
 123 segmentos posteriores, provinda de bactérias que sofrem ação do suco gástrico (Macari, 2014;
 124 Yadav e Jha, 2019).

125 Tabela 1. Principais habitats bacterianos e sua concentração nos segmentos do TGI das aves.

SEGMENTO	PH	MICROBIOTA RESIDENTE	CONCENTRAÇÃO POPULACIONAL (UFC/G)
Inglúvio	4,8	<i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus</i>	$10^3 - 10^4$
Ventrículo	3,5	<i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , coliformes	$10^3 - 10^4$
Duodeno	6,0 – 6,5	<i>Lactobacillus</i> , <i>Estreptococcus</i> , coliformes	$10^3 - 10^4$
Jejuno	5,8 – 6,0	<i>Lactobacillus</i> , <i>Estreptococcus</i> , <i>Proteobacterias</i>	$10^8 - 10^9$
Íleo	6,3 – 7,2	<i>Ruminococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>E. coli</i>	$10^8 - 10^9$
Ceco	6,3	<i>Ruminococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>E. coli</i>	$10^{11} - 10^{12}$
Cloaca	7	<i>Ruminococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>E. coli</i>	$10^3 - 10^4$

126 Adaptado (Yadav e Jha, 2019; Khan et al., 2020)

127 As condições intrínsecas das porções do intestino delgado (ID) e grosso faz com que as
 128 comunidades bacterianas sejam diferenciadas por conta das alterações de gases, pH, enzimas
 129 digestivas, entre outros fatores.

130 O duodeno, porção inicial do ID, é onde há maior variação de pH devido a presença do
 131 quimo, resíduos de enzimas gástricas e a excreção de enzimas pancreáticas e entéricas e sais
 132 biliares. Essa troca de pH torna o meio inóspito para o desenvolvimento e proliferação de cepas
 133 no lúmen, entretanto a camada espessa de muco que reveste as células do enterócito, esta região
 134 possibilita a colonização de algumas cepas. Porém a comunidade e a diversidade microbiana
 135 são muito baixa neste segmento, havendo predominância apenas dos *Lactobacillus* e alguns
 136 *Clostridiales* e enterobactérias, por serem tolerantes ao pH levemente ácido (Christofoli et al.,
 137 2020).

138 Por haver maior tempo de permanência do bolo alimentar no jejuno, esta porção acaba
139 tendo maiores comunidades microbiológicas. Ao longo deste segmento o pH varia de 5,8 – 6,6,
140 o que favorece as bactérias fermentadoras de ácido lático, *Clostridiales* e *Bacteroidetes*. Outras
141 espécies pertencentes ao gênero *Ruminococcus* podem estar presente nesta porção do ID, por
142 haver presença de carboidratos estruturais na dieta e por estes serem degradadores destas
143 macromoléculas (Macari, 2014; Christofoli et al., 2020; Khan et al., 2020).

144 O íleo por apresentar pH mais neutro (6,3 – 7,2) comparado aos segmentos anteriores,
145 e está constantemente renovando a camada de muco devido a abundância de células
146 caliciformes, torna o meio mais propício ao desenvolvimento/colonização de microrganismos
147 no lúmen assim como as aderidas ao enterócito. Ainda assim, a predominância das cepas é do
148 gênero *Lactobacillus* e enterobactérias (Christofoli et al., 2020).

149 O intestino grosso (IG) das aves se diferencia dos demais não-ruminantes por ter a
150 presença de cecos duplos e funcionarem como câmara de fermentação de carboidratos
151 estruturais, e por ser um ambiente anaeróbico, o que o torna propício a proliferação de
152 microrganismos produtores de metabólitos essenciais (ácidos graxos de cadeia curta, vitaminas,
153 hexoses, alguns aminoácidos, entre outros) para a manutenção da microbiota assim como dos
154 enterócitos (Christofoli et al., 2020; Khan et al., 2020).

155 No ceco observa-se maior diversidade microbiana, se tornando o principal foco de
156 estudos por permitir a colonização e desenvolvimento de cepas patogênicas, como *Clostridium*
157 *perfringens*. Os gêneros predominantes neste habitat são *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*,
158 *Eubacterium* e *Bacteroides* (Feitosa et al., 2020).

159 Além dessas particularidades do trato gastrointestinal é importante entender as ligações
160 que podem ser estabelecidas entre o hospedeiro e a microbiota residente, assim como
161 compreender os microhabitats que são formados nesta grande estrutura. A microbiota pode ser
162 estabelecida no lúmen intestinal assim como aderidas ao enterócito, o que determina a
163 colonização e permanência neste habitat é existência de fímbrias na composição estrutural do
164 microrganismo (Macari, 2014).

165 A ausência de fímbrias nas cepas de *Enterococcus* e *Bacillus* permite que estes se
166 proliferem no lúmen entrando em maior contato com as partículas de alimento disponibilizando
167 nutrientes para as cepas aderidas ao enterócito, como os *Lactobacillus* que se ligam as estruturas

168 glicoproteicas do glicocálix formando uma barreira natural contra patógenos. Esta ligação
169 específica ao tecido, chamada de fechadura-chave, favorece cepas benéficas (Macari, 2014).

170 A camada de muco presente no ID, denominada mucina consiste em duas camadas
171 sendo uma externa solta no qual os microrganismos podem colonizar e outra camada interna
172 compacta que repele a maioria das bactérias impedindo a colonização, servindo como a primeira
173 linha de defesa (Pan e Yu, 2013).

174 Ambas camadas são formadas por uma matriz proteica e rica em oligossacarídeos,
175 fontes essenciais de proteína e carboidrato para a microbiota (Macari, 2014). A microbiota
176 aderida a esta estrutura também se nutre dos nutrientes resultantes da digestão luminal, que
177 ficam concentrados no muco para posterior absorção (Khan et al., 2020).

178 Esta simbiose favorece a formação de barreira natural contra microrganismos
179 oportunistas, assim como estimula a produção de muco que também é uma barreira. A aderência
180 de microrganismos comensais causam diminuta degradação celular das vilosidades, entretanto
181 isto estimula a imunidade local não específica, levando a produção de imunoglobulinas que
182 agem na mucosa intestinal, que por sua vez controlam a proliferação microbiana excessiva (Pan
183 e Yu, 2013).

184 Em geral, o desenvolvimento da microbiota é um processo contínuo de sucessão de
185 populações microbianas que depende da idade e do desenvolvimento do TGI, no qual algumas
186 famílias e espécies são substituídas por outras à medida que as aves se desenvolvem (Ocejo et
187 al., 2019).

188 **2.2. Aditivos equilibradores de microbiota intestinal**

189 Aditivos equilibradores da microbiota intestinal segundo a Instrução Normativa 13, de
190 30 de novembro de 2004 (alterada pela Instrução Normativa nº 44/15), são microrganismos que
191 formam colônias ou outras substâncias definidas quimicamente que têm um efeito positivo
192 sobre a microbiota do trato digestório (BRASIL, 2015).

193 Os primeiros relatos do uso de aditivos equilibradores de microbiota foram em 1948 nos
194 estudos de identificação e isolamento da vitamina B₁₂ em culturas fúngicas, no qual foi
195 demonstrado que a massa micelar obtida nas culturas produziam antibióticos, que atuavam
196 como melhorador de desempenho (Gonzales et al., 2012). A descoberta dos antibióticos

197 transformou o mundo ao tornar tratáveis doenças e permitir o uso em doses baixas para prevenir
198 infecções.

199 Com tais pesquisas sendo desenvolvidas o Food and Drug Administration (FDA) dos
200 EUA em 1951 aprovou a utilização na alimentação animal, sem que fosse necessário a
201 prescrição veterinária, visto que as doses usuais seriam subterapêuticas, apenas para fins de
202 promover o benefício a microbiota e conseqüentemente ao desempenho animal (Gonzales et
203 al., 2012).

204 Desde então a avicultura industrial se promoveu com o uso constante de aditivos em
205 dietas, por serem visíveis as melhorias no desempenho e na saúde do plantel. Entretanto, o uso
206 constante e intenso dos antibióticos desencadeou a seleção de linhas bacterianas resistentes.

207 A resistência microbiana aos antibióticos é um processo que ocorre naturalmente, porém
208 o processo pode ser acelerado com a exposição ao uso excessivo de antibióticos. A resistência
209 ocorre quando as cepas alvo se mutam e não respondem aos princípios ativos do medicamento
210 que se tornam ineficazes (Cheng et al., 2016).

211 Deste modo, a resistência bacteriana se tornou uma problemática na saúde animal e
212 humana, por serem administrados em ambos, medicamentos com mesmos princípios ativos. A
213 contaminação de produtos de origem animal – carne, ovos, esterco – por resíduos dos
214 antimicrobianos levaram aos órgãos mundiais (WHO, 1997; UE, 2006 – citado por Castanon,
215 2007) e nacional (BRASIL, 2020) a elaborarem planos e normativas vetando a utilização de
216 alguns antimicrobianos (Tabela 2) em dosagens subterapêuticas, pois o consumo destes
217 produtos a longo prazo poderia levar a resistência bacteriana em humanos.

218 Apesar das proibições dos antibióticos pelos órgãos mundiais (WHO, UE, FDA) ligados
219 à área de saúde, no Brasil segundo a normativa de número 01 de 13 de janeiro de 2020 imposta
220 pelo órgão Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, o antibiótico
221 bacitracina de zinco ainda é usual em dosagens subterapêuticas.

222 **2.2.1. Bacitracina de zinco**

223 A bacitracina é um antibiótico polipeptídico não ribossomal produzidos por cepas de
224 *Bacillus licheniformis* e *B. subtilis*, cuja composição e estrutura são complexas e atuam sobre
225 as bactérias Gram-positivas: estreptococos, estafilococos, corinebactérias e clostrídios (Pavli e

226 Kmetec, 2006; O'Donnell et al., 2015). Existem três subgrupos de bacitracina: A, B e C. O
 227 subgrupo A é o principal constituinte das preparações comerciais (O'Donnell et al., 2015).

228 Tabela 2. Antimicrobianos proibidos como melhoradores de desempenho e alguns aditivos
 229 equilibradores de microbiota intestinal aprovados no uso na alimentação animal

PROIBIDOS	
Nome	Instrução Normativa / Decreto / Lei
Colistina	IN nº 45, de 22/11/2016
Tilosina, Lincomicina e Tiamulina	IN nº 01, de 13/01/2020
APROVADOS	
Nome	Classificação
Avilamicina	Melhorador de desempenho
Bacitracina de Zinco	Melhorador de desempenho
Extrato de casca de carvalho	Melhorador de desempenho
<i>Bacillus licheniformis</i> (ACCC 02002)	Probiótico
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (ATCC 5860)	Probiótico
<i>Enterococcus faecium</i> (NIBH 15221)	Probiótico
Extrato de Hemicelulose	Prebiótico

230 Adaptado, (MAPA, 2020)

231 A bacitracina contém um anel tiazolina e cadeias laterais de peptídeos. Após a
 232 administração, forma um complexo com C55-isoprenil pirofosfato, um componente da parede
 233 celular bacteriana. Esta molécula atua como um transportador envolvido na transferência de
 234 polissacarídeos, peptideoglicano e lipopolissacarídeos para a parede celular em crescimento.
 235 Portanto, a formação da parede celular bacteriana é atrofiada (O'Donnell et al., 2015).

236 Recentemente Crisol-Martínez (2017), comprovou em sua pesquisa que a bacitracina
 237 ainda é eficaz sobre o desempenho e sobre a microbiota cecal de frangos de corte. Contudo, a
 238 tendência mundial é banir a utilização de antibióticos em dietas dos animais para promover
 239 crescimento.

240 Entretanto, os animais continuam submetidos a ambientes adensados que favorecem a
 241 proliferação de patógenos, doenças e estresse que deprimem o sistema imune, tornando os

242 animais mais vulneráveis, sendo impossível a isenção de compostos na dieta que aprimorem a
243 microbiota intestinal (Toledo et al., 2007), e conseqüentemente a digestibilidade e absorção dos
244 nutrientes da ração (Matur et al., 2010; Feitosa et al., 2020).

245 Por isso, há busca por aditivos equilibradores da microbiota alternativos e comensais,
246 que não causem resistência bacteriana, tem sido constante. Pesquisas neste âmbito
247 demonstraram que alternativas como prebióticos, probióticos e simbióticos tem sido
248 promissora.

249 Akbaryan et al. (2019), ao comparar os efeitos dos prebióticos – amido resistente e
250 frutooligossacarídeos – com a bacitracina de zinco, sobre a microbiota cecal, morfologia
251 intestinal e títulos de anticorpo contra o vírus da doença de Newcastle em frangos de corte,
252 constatou que as aves submetidas às dietas contendo prebióticos apresentaram melhores índices
253 quando comparadas as aves que consumiram a bacitracina de zinco.

254 Thema et al. (2019), constatou que aditivos alternativos (probiótico – *Bacillus subtilis* –
255 , ácidos orgânicos, protease e minerais quelados) e suas combinações podem substituir a
256 bacitracina de zinco em dietas para frangos de corte, por não promovem a resistência
257 microbiana e contribuir para o desenvolvimento produtivo da ave.

258 **2.3. Prebiótico**

259 **2.3.1. Definição e fontes**

260 Os prebióticos são definidos como compostos não digeríveis que, por meio de sua
261 metabolização por microrganismos no intestino, modulam a composição e / ou atividade da
262 microbiota intestinal, conferindo efeito fisiológico benéfico ao hospedeiro (Bindels et al.,
263 2015). Sendo assim uma alternativa para aumentar o número de cepas benéficas no trato
264 digestivo.

265 A composição dos prebióticos são essencialmente formadas por carboidratos com
266 ramificações e tamanhos diferenciados, podendo ser monossacarídeos, dissacarídeos,
267 oligossacarídeos e polissacarídeos (Raizel et al., 2011). A sua extração pode vir de diversas
268 fontes alimentares como alguns cereais, tubérculos e raízes, assim como da parede de
269 microrganismos, tais como glucanos e mananos quando extraídos da parede celular da levedura
270 *Saccharomyces cerevisiae* (Raizel et al., 2011; Lemos et al., 2016), mas em geral a maior parte

271 da extração é de fonte vegetal. Dentre os prebióticos mais usuais estão os frutooligossacarídeos
272 (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), β -glucanos e os xilooligossacarídeos (XOS).

273 Os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina – sua versão de cadeia mais longa (de 3 à 60
274 monômeros), estão entre os prebióticos mais estudados em humanos e animais. Os FOS são
275 carboidratos de cadeia curta e não digeríveis, formado por polímeros lineares naturais de 2 até
276 10 monoméricos, onde de 2 à 9 unidades de frutose se ligam através de ligações glicosídicas β -
277 (2-1) e α - (1-2), terminadas por um resíduo de glicose (Pourabedin e Zhao, 2015; Shang et al.,
278 2018; Macedo et al., 2020) e obtidos através da hidrólise da inulina (Raizel et al., 2011).
279 Normalmente os FOS são encontrados nas formas de 1-kestose (GF2), nistose (GF3) e
280 frutofuranosil nistose (GF4) (Macedo et al., 2020).

281 Essa ligação β -glicosídica presente nos frutanos confere resistência à quebra da
282 molécula por parte das aves, pela ausência de enzimas digestivas específicas. Deste modo
283 apenas grupos seletos de bactérias benéficas, como exemplo *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*
284 formadoras de ácido láctico, conseguem digerir este substrato e se beneficiar ocasionando
285 aumento da população. Com o aumento da população destas cepas, conseqüentemente haverá
286 maior produção de ácido láctico, tornando o meio luminal levemente ácido deixando o ambiente
287 inóspito para a proliferação de bactérias patogênicas, como *Clostridium pefrigens* e *E. coli* em
288 aves (Ricke, 2015).

289 Outro grupo do prebiótico compreende os mananoligossacarídeos (MOS) que são
290 oligômeros à base de manose ligados entre si por ligações glicosídicas β - (1,4), normalmente
291 encontrados em determinadas plantas como o feijão ou na porção manoproteína da parede
292 celular da *Saccharomyces cerevisiae*, cujos principais componentes, mananos e β -glucanos
293 (manoproteínas), são conhecidos por induzir a ativação do sistema imunológico dos animais
294 (Pourabedin e Zhao, 2015; Diaz et al., 2018).

295 Já os β -glucanos são polissacarídeos de cadeia longa, compostos de monômeros de D-
296 glicose ligados entre si por ligações glicosídicas β - (1,3) e β - (1,6), derivados de leveduras ou
297 de paredes celulares de fungos (Teng e Kim, 2018). Por terem a composição formada por
298 ligações beta, essa classe de prebiótico se ligam a receptores específicos de macrófagos que
299 reconhecem os açúcares específicos encontrados em glicoproteínas da superfície epitelial,
300 estimulando a fagocitose pelos macrófagos, a produção de citocina que ativam a produção de
301 linfócitos aumentando conseqüentemente a resposta imune inata e adquirida (Świątkiewicz et
302 al., 2014).

303 As aves por não possuírem enzimas responsáveis pela hidrólise das ligações deste
304 composto, acredita-se que este oligossacarídeo alcance o trato gastrointestinal inferior sem ser
305 digerido. Ao atingir a nível de intestino, os carboidratos contendo manose se ligam às lectinas
306 patogênicas e impedem a sua fixação ao enterócito, deste modo há uma diminuição da
307 população patogênica no trato (Pourabedin e Zhao, 2015; Teng e Kim, 2018).

308 Outra fonte prebiótica são os xiloligossacarídeos (XOS) que são formados por unidades
309 de D-xilopiranosídeo ligados entre si por ligação β - (1,4). Sua produção se dá pela degradação
310 hidrolítica parcial de materiais lignocelulósicos, como os cereais. A sua estrutura formada por
311 ligações glicosídicas entre os monômeros de xilose, o faz com que atinja o trato intestinal,
312 principalmente o ceco pois é onde ocorre maior fermentação, sem ser degradado pois as aves
313 não possuem enzimas específica para a quebra das ligações (Pourabedin e Zhao, 2015).

314 **2.3.2. Mecanismo de ação**

315 Em geral, os prebióticos quando inseridos as dietas das aves atuam de diferentes formas
316 dentro dos segmentos do trato digestivo, obtendo maior atividade na parte inferior do trato
317 (ceco) por haver maior população e diversidade microbiana. Os mecanismos de ação no
318 organismo do animal variam de acordo com a fonte utilizada (MOS, FOS, β -glucanos, entre
319 outros).

320 Os mecanismos de ação dos prebióticos mais relatados na literatura são como substrato
321 para cepas benéficas, barreira física no intestino e estimuladores do sistema imune.

322 Os prebióticos quando fornecidos como substratos para espécies microbianas benéficas,
323 geram metabólitos, como, derivados de ácidos biliares, vitaminas e ácidos orgânicos – ácidos
324 graxos de cadeia ramificada e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) – que são absorvidos pelo
325 animal e algumas substâncias antibacterianas, como a bacteriocina que atua sobre cepas
326 patogênicas, alterando a população da microbiota residente (Bindels et al., 2015; Teng e Kim,
327 2018).

328 Os ácidos orgânicos provindos da degradação dos prebióticos, alteram o pH intestinal
329 deixando o lúmen levemente ácido tornando o meio inóspito para determinadas cepas
330 patogênicas, como exemplos, dos gêneros *Salmonella sp* e *E. coli* (Lan et al., 2017). Essa
331 alteração de pH também estimula a produção de enzimas pancreáticas o que acarreta ao maior
332 contato da ingesta com as enzimas melhorando a digestibilidade dos nutrientes (Ricke et al.,
333 2020).

334 Os metabólitos produzidos são aproveitados pelo animal de forma eficiente que acarreta
335 na otimização no desempenho produtivo. Esses metabólitos gerados a partir da digestão dos
336 substratos são aproveitados de forma mútua pelo animal, além de apresentar atividade
337 antimicrobiana, melhora a integridade das células do enterócito e regula a população
338 microbiana do trato gastrointestinal.

339 Como barreira física, os prebióticos possuem ligações glicosídicas que se aderem à
340 mucosa intestinal formando uma espécie de barreira impedindo a adesão de bactérias, fungos e
341 protozoários patogênicos à parede das células do enterócito, desta forma os patógenos se ligam
342 ao prebiótico e são eliminados do trato digestivo através das fezes/excreta. Em resposta a
343 ligação prebiótica-enterócito há estímulo à produção de mucina pelas células caliciformes do
344 epitélio luminal formando uma barreira natural de muco dificultando a aderência de patógenos
345 (Forte et al., 2018).

346 Essa adesão do prebiótico à mucosa também gera resposta imunológica, onde as células
347 sentinelas como as dendríticas, macrófagos e os mastócitos ao realizarem o reconhecimento de
348 padrões moleculares associados a patógenos capturam a molécula, processam e apresentam
349 antígenos para os linfócitos (Antoniali, 2013; Teng e Kim, 2018). Este reconhecimento induz
350 a maturação da célula dendrítica, um processo essencial para ativar os linfócitos T e B,
351 produzidos pelos órgãos Timo e Bursa de Fabrício nas aves, respectivamente (Antoniali, 2013).

352 Outra forma de atuação do prebióticos é como antígenos não patogênicos. Eles por
353 serem reconhecidos pelos receptores de células imunes, agem também como adjuvantes de
354 vacinas aumentando os títulos de anticorpos (Teng e Kim, 2018).

355 Desta forma os prebióticos apresentam vários efeitos benéficos fisiológicos,
356 metabólicos e imunológicos, conferindo ao animal melhoria na microbiota residente, na
357 integridade dos enterócitos e conseqüentemente no desempenho produtivo.

358 Dietas isentas desse tipo de aditivo, possuem poucos ingredientes em sua formulação
359 que servirão como substratos para a microbiota residente, não apresentando resultados
360 significativos sobre o desempenho produtivo, devido à baixa quantidade de metabólitos
361 produzidos. Nesta classe estão os carboidratos não digeríveis, que são os amidos resistentes,
362 pectinas, arabinosilossacarídeos e outras fibras dietéticas (Bindels et al., 2015). Contudo, a
363 aplicação de prebióticos em dietas pode estabelecer uma comunidade microbiana saudável no
364 intestino de aves aumentando a abundância de *Lactobacilos* e *Bifidobactérias* e reduzindo os
365 títulos de coliformes (Teng e Kim, 2018).

366 Diversas pesquisas vêm demonstrando os benefícios mútuos destes substratos na
367 alimentação de aves, quando inseridos sós ou em conjunto com outros grupos prebióticos. No
368 estudo realizado por Park et al. (2017), foi constatado que frutooligosacarídeos, galacto-
369 oligossacarídeos e fibra alimentar de ameixa enriqueceram a comunidade bacteriana e modulam
370 a diversidade do microbioma. Essa modulação levou ao aumento de bactérias produtoras de
371 ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato, que tem potencial em reduzir infecção por
372 *Salmonella*, inibir a inflamação e pode promover as taxas de renovação da mucosa celular.

373 Corigan et al. (2015), ao identificar os efeitos reprodutíveis da suplementação dietética
374 com um mananoligosacarídeo (MOS) na estrutura e função da comunidade bacteriana cecal
375 de frangos de corte em um ambiente de produção comercial, constatou alteração na comunidade
376 bacteriana de 7 dias de suplementação até 35 dias, onde os filos *Bacteroidetes* foi substituído
377 pelo *Firmicutes*. Esse resultado indicou que as alterações das comunidades bacterianas como
378 resultado de MOS podem alterar a capacidade funcional do ceco.

379 Adhikari et al. (2018), ao avaliar a eficácia dos níveis 0,5 e 1,0% do prebiótico
380 frutooligosacarídeos (FOS) no controle da infecção de *Salmonella* enteritidis (SE) em galinhas
381 poedeiras - White Leghorns, observou que houve aumento para imunoglobulina A (IgA) à
382 medida que a concentração de FOS aumentou, atingindo significância de 1,0%, bem como a
383 expressão do gene de citocina alterada no íleo. Houve um aumento significativo de receptores
384 específicos do sistema imune (toll-like-4 e interferon gama) em ambos os níveis de FOS. Além
385 disso, a suplementação de FOS também reduziu SE cecal e fezes. Com isso, os resultados
386 sugerem que a suplementação dietética com FOS alterou a patogênese SE enquanto modulava
387 a imunidade humoral no tecido linfóide associado ao intestino.

388 O estudo com adição de β -1,3-glucano nas concentrações de 0,1 e 0,2% às rações de
389 frangos de corte realizado por Zhang et al. (2020), constatou que as aves ao consumirem a dieta
390 enriquecida do aditivo, houve aumento na digestibilidade da energia, reduziu a população de *E.*
391 *coli* no íleo e conseqüentemente melhorou a qualidade da carcaça.

392 Apesar de cada grupo prebiótico agir de forma semelhante, às particularidades entre os
393 grupos são existentes, isso é o que nos mostram as pesquisas, contudo é um aditivo alternativo
394 à problemática da resistência bacteriana causada pela administração contínua de antibióticos e
395 que deve ser melhor estudado afim de esclarecer suas particularidades.

396
397

398 **2.4. Probiótico**

399 **2.4.1. Definição**

400 O termo probiótico é derivado do latim (*pro*) e grego (*bios*) que significa “para a vida”
401 (Gogineni, 2013; Sidjabat e Blackall, 2020), sendo o antônimo de antibiótico que significa
402 “contra-vida” (Coppola e Turnes, 2004; Murarolli, 2008).

403 Os primeiros relatos demonstrando a influência dos microrganismos sobre a saúde,
404 foram realizados por Metchnikoff em 1908, onde o mesmo observou uma maior longevidade
405 em camponeses búlgaros que consumiam leite fermentado por bactérias produtoras de ácido
406 láctico (um exemplo de probiótico - *Lactobacillus acidophilus*), o qual atribuía proteção contra
407 infecções gastrintestinais e redução do câncer de cólon pela sua ingestão (Maity e Misra, 2009).

408 O termo probiótico ganhou várias definições ao longo dos anos, sua primeira descrição
409 foi realizada em 1965 por Lilly e Stillwell quando os mesmos descreveram os probióticos como
410 substâncias desconhecidas promotoras de crescimento produzidas por um protozoário ciliado
411 que estimulava o crescimento de outro ciliado. Enquanto Parker (1974), descreveu os
412 probióticos como microrganismos ou substâncias que favoreciam o balanço da microbiota
413 intestinal (FAO, 2016).

414 Fuller (1989), criticou a inclusão da palavra “substâncias” e redefiniu o termo probiótico
415 como “suplemento alimentar constituído por microrganismos vivos capazes de beneficiar o
416 hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal”. Posteriormente, o autor redefiniu sua
417 ideia e considerou que, para um composto ser considerado como probiótico deveria
418 compreender alguns requisitos tais como “os microrganismos deveriam ser produzidos em larga
419 escala, permanecendo estáveis e viáveis em condições de estocagem, serem capazes de
420 sobreviver no ecossistema intestinal e possibilitar ao organismo os benefícios de sua presença”.

421 A definição mais amplamente aceita sobre os probióticos, é descrita pelos órgãos de
422 pesquisa conjunta FAO e WHO, sendo “microrganismos vivos que, quando administrados em
423 quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (FAO, 2016).

424 Nos últimos anos, pesquisadores concentraram seus estudos no fornecimento de novos
425 e alternativos suplementos alimentares que previnem doenças, estimulem o aumento da
426 imunidade das aves e diminuam os riscos biológicos causados pelo uso dos antibióticos. Os
427 probióticos se mostram possíveis substitutos aos antibióticos, pelo seu histórico de uso seguro

428 em produtos lácteos fermentados e pelos seus efeitos benéficos, altamente reconhecidos na
429 saúde humana.

430 Os probióticos são constituídos por várias espécies de bactérias benéficas, fungos ou
431 leveduras que além de promover o crescimento animal também são capazes de eliminar
432 bactérias patogênicas como *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,
433 *Clostridium perfringens* (Iannitti e Palmieri, 2010; Alagawany et al., 2018). Podem ser
434 fornecidos como um suplemento alimentar microbiano vivo na dieta ou na água das aves,
435 também podem ser administrados ao embrião em desenvolvimento usando tecnologia de
436 alimentação *in ovo* (Pender et al., 2016; Jha et al., 2020).

437 **2.4.2. Mecanismo de ação e fontes**

438 Dentre os mecanismos de ação dos probióticos destaca-se a inibição de patógenos pela
439 produção substâncias antibacterianas, como as bacteriocinas, ácidos orgânicos, peróxido de
440 hidrogênio e defensinas, inibição competitiva pelo bloqueio de adesão das bactérias patogênicas
441 aos locais de ligação epitelial intestinal, modulação das respostas imune do hospedeiro,
442 regeneração da mucosa intestinal, secreção de enzimas digestivas (Tiwari et al., 2012;
443 Alagawany et al., 2018).

444 Os probióticos também podem atuar na regulação de produção de citocinas anti e pró
445 inflamatórias (Roselli et al., 2005; Alagawany et al., 2018) podem estimular a produção de
446 anticorpos, aumentar a atividade das células naturais de killer e macrófagos, também podem
447 estimular as funções de barreira epitelial e regular a produção de muco, motilidade intestinal,
448 bem como, podem estimular o baixo pH, que facilita a absorção de proteínas e minerais como
449 cobre, cálcio, ferro, manganês e magnésio (Raghuwanshi et al., 2015; Alagawany et al., 2018).

450 Cada probiótico possui mecanismos de ação distintos, o que lhes confere uma eficácia
451 protetora variável. Nesse contexto, muitos produtos comerciais utilizam um mix de cepas
452 probióticas, que agem em diferentes locais e modos, criando efeitos sinérgicos benéficos ao
453 animal.

454 Para que se utilize uma bactéria como probiótico, deve-se seguir alguns critérios
455 básicos, como tolerância a condições gastrointestinais, capacidade em suportar pH baixo e altas
456 concentrações de ácidos biliares (FAO, 2016), exclusão competitiva de patógenos e capacidade
457 de aderir à mucosa gastrointestinal (Klaenhammer e Kullen, 1999; Gadde et al., 2017; Jha et

458 al., 2020). Além disso, os probióticos são selecionados com base em sua sobrevivência na
459 fabricação, armazenamento, transporte, processos de aplicação, capacidade de manter a
460 viabilidade e suas características desejáveis (FAO, 2016; Jha et al., 2020).

461 Existe vários tipos de microrganismos com potencial para serem utilizados como fonte
462 probiótica, contudo, os tipos mais comuns são as bactérias ácido lácticas e as bifidobactérias,
463 embora outras bactérias e certas leveduras também sejam utilizadas (Didari et al., 2014). As
464 cepas benéficas de caráter probiótico mais comumente usadas na nutrição animal são as do
465 gênero *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, *Enterococcus spp*, *Bacillus subtilis* e
466 *Saccharomyces spp*. Podendo estas serem extraídas de produtos fermentados, não fermentados
467 e do corpo animal/ humano (leite, conteúdo intestinal, fezes) (Soccol et al., 2010; Alagawany
468 et al., 2018).

469 **2.4.3. *Lactobacillus acidophilus***

470 As bactérias do gênero *Lactobacillus* pertencem ao filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordem
471 *Lactobacillales*, família *Lactobacillaceae* (Schmitt, 2014). São bactérias Gram-positivas, não
472 formadoras de esporos e facultativamente anaeróbias ou micro- aerofílicas em formato de
473 bastonetes, constituem um dos gêneros de bactérias produtoras de ácido láctico – LABs
474 (Goldstein et al., 2015). O gênero é compreendido por 261 espécies (Zheng et al., 2020) sendo
475 estas encontradas em diferentes ambientes, como plantas, solos, vegetais, cereais, frutas,
476 bebidas fermentadas, queijos, pele, cavidade oral, trato gastrointestinal de animais e humanos,
477 dentre outros (Mesquita et al., 2017). São bactérias bastantes fastidiosos, por isso precisam de
478 um meio rico em nutrientes, contendo aminoácidos, peptídeos, carboidratos, ácidos graxos, sais,
479 derivados de ácidos nucleicos e vitaminas para se desenvolverem (Carr et al., 2002; Schmitt,
480 2014).

481 Os lactobacilos podem ser divididos em 2 grupos metabólicos: homofermentativo,
482 convertem a glicose em ácido láctico, e heterofermentativo, convertem a glicose em ácido láctico,
483 ácido acético, etanol e CO₂. Esses metabólitos podem reduzir o pH do lúmen intestinal,
484 tornando o ambiente desfavorável para as bactérias patogênicas (Menconi et
485 al., 2011). Pesquisas constatam que cepas de *Lactobacillus* exercem efeito de exclusão
486 competitiva em enterobactérias, como *Salmonella enterica* sorovar *Enteritidis* em galinhas
487 (Penha Filho et al., 2015). Além disso, influenciam positivamente o equilíbrio da microbiota

488 gastrointestinal, aumentando a presença de bactérias benéficas, como *Bifidobacterium spp.*, e
489 reduzindo bactérias potencialmente prejudiciais, como *Clostridia*, *Estafilococos* e *Escherichia*
490 *coli* (Forte et al., 2016).

491 Os *Lactobacillus acidophilus* é uma das espécies considerada mais importantes dentro
492 do gênero *Lactobacillus*, são bastonetes Gram-positivos, não formadores de esporos, com
493 extremidades arredondadas, que ocorrem isoladamente, em pares e em cadeias curtas,
494 geralmente com dimensões de $0,6-0,9 \times 1,5-6\mu\text{m}$ (Ozogul e Hamed, 2016). São encontrados
495 principalmente nos intestinos de animais e humanos (Schmitt, 2014) e na vagina de ambos,
496 onde o ambiente pode ser bastante ácido (Ozogul e Hamed, 2016). Costumam ser utilizados
497 como probióticos devido sua resistência à bile e seu alto potencial em estabelecer um equilíbrio
498 saudável entre a microbiota benéfica e patogênica.

499 Os *Lactobacillus acidophilus* possuem mecanismos de ação semelhante à de outras
500 espécies de *Lactobacillus*, onde vão atuar aderindo-se ao epitélio intestinal, formando uma
501 barreira que previne a colonização de microrganismos indesejáveis devido à competição por
502 nutrientes e sítios de aderência, além disso, podem atuar liberando fatores antimicrobianos
503 como bacteriocinas, ácidos graxos de cadeia curta, peróxido de hidrogênio, diacetil e amônia
504 (Ozogul e hamed, 2016).

505 As bacteriocinas produzidas pelos *L. acidophilus* são as do tipo lactacina – B (Tabasco
506 et al., 2009; Hegarty et al., 2017; Dean et al., 2020), vão atuar destruindo as células-alvo das
507 bactérias patogênicas pela formação de poros e pela inibição da síntese da parede celular. Já os
508 ácidos graxos de cadeia curta, como de exemplo ácido láctico e ácido acético, produzidos no
509 processo de fermentação, reduzem o pH do lúmen intestinal, condicionando à eliminação das
510 bactérias patogênicas gram-negativas, pelo rompimento das membranas externas.

511 Pesquisas científicas tem demonstrado os benefícios proporcionados pelos
512 *Lactobacillus acidophilus*. Li et al. (2018), avaliando os efeitos de *Lactobacillus acidophilus*
513 sobre o desempenho de crescimento e saúde intestinal de frangos de corte desafiados por
514 *Clostridium perfringens*, observaram que a cepa probiótica pode modular a microbiota
515 intestinal, aliviar as inflamações e o comprometimento do intestino, bem como reduzir os
516 índices de mortalidade de frangos desafiados com *C. perfringens*.

517 Elmi et al. (2020), avaliando os efeitos de *Lactobacillus acidophilus* e antibacterianos
518 naturais no desempenho de crescimento e colonização de *Salmonella* em frangos de corte
519 desafiados com *Salmonella enterica*, concluíram que os lactobacilos melhoram as
520 características de desempenho de crescimento, morfologia intestinal, inibição do crescimento
521 de *Salmonella*, podendo ser utilizados como uma alternativa adequada a muitos antibióticos.

522 **2.4.4. *Bifidobacterium bifidum***

523 As bactérias do gênero *Bifidobacterium* pertencem ao filo *Actinobactéria*, ordem
524 *Bifidobacteriales* e família *Bifidobacteriaceae* (Lee e O'Sullivan, 2010). assim como as
525 bactérias do gênero *Lactobacillus*, também pertencem ao grupo das bactérias ácido lácticas –
526 LABs (Salminen et al., 1998; Picard et al., 2005). São bactérias gram-positivas, anaeróbios
527 estritos, imóveis, não formadores de esporos, curtos e irregulares, possuem formato de
528 bastonete curvo com bifurcação em formato de V ou Y com ramificações rudimentares (Butta
529 et al., 2017).

530 O gênero *Bifidobacterium* é compreendido por 48 espécies e subespécies (Bunesova et
531 al., 2014), sendo estas encontradas em ambientes como intestinos de animais, humanos e
532 insetos, bem como no leite cru e na cárie dentária humana (Lee e O'Sullivan, 2010). Em aves
533 podem ser encontradas tanto no intestino delgado, quanto no grosso (Figueira, 2013). Podem
534 fermentar oligossacarídeos não digeríveis no ceco e utilizá-los como fonte de carbono e energia
535 (Gomes e Malcata, 1999; Figueira, 2013).

536 Dentre as características benéficas relacionados aos *Bifidobacterium* pode-se destacar a
537 inibição do crescimento de bactérias patogênicas devido a produção de ácidos graxos de cadeia
538 curta como acetato e lactato (El-Hack et al., 2020), bacteriocinas e pela redução de pH intestinal,
539 auxílio sobre a digestão e absorção de nutrientes, estímulo sobre a síntese de vitaminas do
540 complexo B e imunidade devido a ativação da proliferação dos macrófagos (Leahy et al., 2005;
541 Figueira, 2013) e também auxiliam na síntese da produção de mucina que é uma glicoproteína
542 ligada à proteção da mucosa intestinal.

543 Os *Bifidobacterium* produzem dois tipos de bacteriocinas, a bifidina e bifidocina B. A
544 bifidocina B vai atuar como agente antibacteriano em algumas cepas patogênicas de origem
545 alimentar, como *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Bacillus*, *Enterococcus* e *Pediococcus*

546 *spp.* Enquanto a bifidina só é ativa contra *Micrococcus flavus* e *Staphylococcus aureus* (Shah e
547 Dave, 2002; Abdel-Moneim et al., 2019).

548 Apesar das bifidobactérias serem consideradas como anaeróbios estritas, existem
549 algumas cepas que podem sobreviver na presença de O₂, como as cepas de *Bifidobacterium*
550 *boum*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Bifidobacterium animalis spp.* (Bunesova et al., 2014).

551 As cepas de *Bifidobacterium bifidum* se destacam dentro do gênero dos *Bifidobacterium*
552 devido aos seus benefícios, os quais são modulação da microbiota intestinal, imunoestimulação,
553 competição com bactérias patogênicas por locais de fixação intestinal e nutrientes, produção de
554 substâncias antimicrobianas como ácido láctico e acético que podem inibir tanto bactérias
555 Gram-positivas ou negativas (El-Moneim et al., 2019).

556 Estrada et al. (2001), avaliando os efeitos de uma cepa de *Bifidobacterium bifidum* sobre
557 os níveis de populações bacterianas fecais, incidência de celulite aviária e desempenho de
558 crescimento em frangos de corte, constataram efeitos significativos sobre o desempenho de
559 crescimento, reduções dos números de bactérias patogênicas como coliformes e clostrídios,
560 bem como, reduções dos números de animais com celulite aviária.

561 Em pesquisa El-Moneim et al. (2019), avaliando a administração *in ovo* de duas cepas
562 probióticas *Bifidobacterium bifidum* ATTC 29521 (5×10^9 e 1×10^7 UFC) e *Bifidobacterium*
563 *longum* ATTC 15707 (5×10^9 e 1×10^7 UFC), e seus efeitos no desempenho e na expressão gênica
564 em pintos de corte, constataram melhorias significativas no peso corporal vivo, ganho de peso
565 corporal, taxa de conversão alimentar, parâmetros hematológicos e altura das vilosidades sem
566 efeito negativo sobre as características de carcaça e parâmetros de indicação da função hepática
567 e renal.

568 **2.4.5. *Bacillus subtilis***

569 O gênero *Bacillus* é composto por bactérias gram-positivas em forma de bastonete,
570 pertencentes ao filo *Firmicutes*, ordem *Bacillales*, família *Bacillaceae*. São bactérias
571 formadoras de esporos, aeróbia ou anaeróbia facultativa. Em geral, o gênero *Bacillus* é
572 designado como um grupo habitante no solo, contudo, podem ser extraídos de outras fontes
573 como ar, água, vegetais, alimentos, e intestino animal e humano (Elshagabee et al., 2017).

574 Os *Bacillus* são bactérias que se desenvolvem em ambientes com temperaturas em torno
575 de 25 a 37 °C, apesar de existir algumas cepas que podem crescer em faixa de temperatura
576 muito altas ou muito baixas. Algumas cepas também podem habitar ambientes com pH ao
577 extremo, podendo crescer em pH entre 2 e 10, sendo essas heterogeneidades de ambientes e
578 condições de crescimento, reflexos da variedade de ambientes que a espécie pode habitar e a
579 quantidade de substrato que podem utilizar em prol do seu crescimento (Santos, 2018).

580 Em condições ambientais estressantes os *Bacillus* podem produzir esporos que
581 permanecem em um estado dormente por longos períodos de tempo, vantagem que os distinta
582 sobre os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os esporos dos bacilos podem resistir temperaturas
583 de até 113°C por um período de até 8 minutos, além disso, podem resistir a pH baixos, bem
584 como sais biliares e outras condições adversas do trato gastrointestinal (Barbosa et al., 2005;
585 Grant et al., 2018).

586 Os esporos dos bacilos desempenham saúde intestinal não apenas por mecanismos de
587 exclusão competitiva, mais também pela produção de peptídeos antimicrobianos (PAM), que
588 são citotóxicos para as bactérias patogênicas, o que reduz os sinais associados as doenças
589 infecciosas entéricas, como a coccidiose aviária (Grant et al., 2018).

590 Os bacilos são produtores reconhecidos de peptídeos antimicrobianos a mais de 50 anos,
591 produzem cerca de 66 tipos diferentes de PAM, sendo que alguns já foram purificados e
592 comercializados pela indústria. Algumas bactérias produzem os PAM de forma ribossômica,
593 onde os mesmos vão atuar em uma faixa antimicrobiana mais estreita contra microrganismos
594 intimamente relacionados, enquanto outras bactérias que produzem de forma não-ribossômica,
595 onde moléculas precursoras codificadas por genes são montadas pós-tradução por enzimas,
596 exercem uma atuação em faixa antimicrobiana mais ampla (Sumi et al., 2015; Grant et al.,
597 2018).

598 As bacteriocinas são os principais PAM produzidos de forma ribossômica, se
599 enquadram em três classes principais (Zhao e Kuipers, 2016). Classe I são os lantibióticos que
600 contêm os aminoácidos modificados lantionina e metillantionina, classe II são bacteriocinas
601 não modificadas de baixo peso molecular (<30 kDa) e classe III são proteínas que possuem alto
602 peso molecular e que não toleram o calor (> 30 kDa) (Grant et al., 2018).

603 As bacteriocinas atuam de maneira a formar poros na parede celular das bactérias,
604 inicialmente por atração pelas cardiolipinas carregadas negativamente, fosfatidilserina ou
605 fosfatidilglicerol. Após a ligação a receptores específicos da parede celular, o espectro da
606 atividade antimicrobiana é dependente do peptídeo (Lee e Kim, 2011; Grant et al., 2018).

607 Os bacilos também produzem PAM de forma não ribossômica por meio de mecanismos
608 detalhados de montagem contendo mais de 300 precursores diferentes, que são mediados por
609 peptídeos sintases. Esses PAM possuem uma ampla gama de inibições microbianas e são
610 eficazes contra bactérias Gram-negativas e positivas, bem como a fungos, leveduras e até
611 mesmo a vírus (Hancock e Chapple, 1999; Grant et al., 2018).

612 Os PAM não ribossomal produzidos pelos bacilos mais bem estudados são as
613 bacitracinas e gramicidinas, devido seus usos como antimicrobianos na área médica. Outros
614 PAM não ribossomais produzidos pelos bacilos são iturinas e fengicinas, que são lipopeptídeos
615 com atividade antifúngica (Maget-Dana e Peypoux, 1994; Deleu et al., 2008).

616 Os *Bacillus subtilis* é considerado uma das espécies que mais se destacam dentro do
617 gênero bacillus, devido ao fato dos mesmos possuírem características biológicas únicas, tais
618 como crescimento rápido, formação de esporos em ambientes adversos, resistência a ácidos,
619 alcalinos e calor. Devido ao seu crescimento rápido os esporos dos *Bacillus subtilis* possuem
620 a capacidade de alojar-se no trato intestinal para crescimento e reprodução, após os processos
621 de extrusão e granulação no processamentos das rações, e após exposição a ambiente contendo
622 ácido forte no intestino animal (Gao et al., 2017).

623 Além dessas características, os *B. subtilis* por ser bactérias aeróbias podem consumir
624 oxigênios livres enquanto passam pelos processos de reprodução no trato intestinal, devido a
625 esse mecanismo, os bacilos podem controlar o crescimento de algumas bactérias patogênicas
626 aeróbicas e aumentar o crescimento de bactérias benéficas anaeróbicas, como os *Lactobacillus*,
627 *Bifidobacterium* e leveduras (Gao et al., 2017).

628 Os *B. subtilis* possuem capacidade de manter e restaurar o equilíbrio da microbiota
629 intestinal, promover o crescimento animal, bem como melhorar as funções imunológicas e
630 manter a resistência dos animais perante as doenças (Tannock et al., 2000; Gao et al., 2017).

631 Vários são os estudos que demonstram o potencial dos bacilos como fonte probiótica.
632 Bilal et al. (2020), avaliando os efeitos de duas cepas de *Bacillus* (*pumilus* e *subtilis*) sobre o

633 desempenho de crescimento, microbiota intestinal, imunidade e saúde intestinal, observaram
634 que a suplementação com as duas cepas probiótica conferiu benefícios a saúde intestinal para
635 os frangos de corte, promovendo a integridade e função intestinal juntamente com a ativação
636 de TREG do sistema imunológico.

637 Zhang et al. (2021), avaliando os efeitos do *B. subtilis* no desempenho de crescimento,
638 morfologia intestinal e composição microbiana cecal de frangos de corte, observaram melhora
639 no desempenho de crescimento das aves, composição da microbiota intestinal e manutenção da
640 saúde intestinal das aves.

641 **2.4.6. *Saccharomyces cerevisiae***

642 As *Saccharomyces cerevisiae* é um organismo eucariótico, unicelular, pertencente ao
643 reino *Fungi*, da classe *Hemiascomycetes*, ordem *Endomycetales*, família *Saccharomycetaceae*,
644 sub-família *Saccharomycetoideae* e gênero *Saccharomyces*. A *Saccharomyces* é um tipo de
645 levedura considerada benéfica, devido aos seus extratos serem ricos em proteínas, vitaminas
646 (B6, tiamina, biotina, riboflavina, ácido nicotínico e pantotênico), minerais (magnésio e zinco)
647 e nucleotídeos (Figueira, 2013; Elghandour et al., 2019).

648 Este gênero é bastante utilizado na indústria de vinhos e alimentos para a fermentação
649 natural dos produtos, mas recentemente tem sido estudada como fonte probiótica para humanos
650 e animais de produção, devido a sua capacidade de impedir a instalação de cepas patogênicas
651 (*E. coli*, *S. Typhi* e *S. Typhimurium*) no trato digestivo, através da adesão aos patógenos,
652 neutralizando inclusive a translocação da *Salmonella* do trato digestivo para o fígado, baço e
653 linfonodos mesentéricos, mantendo assim a integridade do epitélio intestinal e dos demais
654 órgãos (Silva, 2012; Palma et al., 2015).

655 Uma das características que tornaram as *Saccharomyces cerevisiae* como uma
656 alternativa probiótica, foi o fato desta cepa resistir ao pH 2,0, bem como, sais biliares, digestão
657 *in vitro* e por possuir capacidade de formar agregados celulares de superfície hidrofóbica, ou
658 seja, apresenta alta capacidade de formar colônias e de se aderir ao epitélio intestinal, além de
659 não apresentarem atividade hemolítica e serem sensíveis à nistatina, trazendo uma maior
660 segurança de seu uso (Romero-Luna et al., 2018; Puppala et al., 2018).

661 Quando adicionado a dieta das aves, as *Saccharomyces cerevisiae*, potencializa o
662 desempenho produtivo por melhorar a eficiência alimentar, condicionar a uma melhor

663 digestibilidade do alimento, reduzir o número de bactérias patogênicas, melhorar a saúde animal
664 e reduzir os impactos ambientais negativos da produção animal (Elghandour et al., 2019).

665 Bovo et al. (2015), em seu estudo verificou que a *Saccharomyces* (0,1 g/kg de ração)
666 possui a capacidade de adsorver micotoxinas como a aflatoxinas em testes *in vitro*, e que quando
667 estas células são adicionadas em dietas para frangos de corte tem a capacidade de reduzir a
668 gravidade das alterações histológicas no fígado e rins causados pela afltoxina B1.

669 Estas cepas também são capazes de ativar o sistema imunológico a ponto de haver
670 melhorias do estado imunológico em resposta ao desafio microbiano. Morales-Lopez e Brufau
671 (2013), constataram este efeito em sua pesquisa ao adicionarem a *Saccharomyces Cerevisiae*
672 (0,5g/kg de ração) a dietas para frangos de corte desafiados com *E. coli*, observando que órgãos
673 imunológicos como a Bursa de Fabricius aumentou de tamanho nas aves que consumiam o
674 probiótico, devido a interação probiótico-sistema imunológico, apesar do desafio.

675 **2.4.7. *Enterococcus faecium***

676 Os enterococos foram citados pela primeira vez em 1899, onde pesquisadores ao
677 descreverem bactérias comensais que possuíam capacidade de se tornar patogênica descobriram
678 este gênero (Fiore et al., 2019; García-Solache e Rice, 2019). A partir de então, pesquisas se
679 difundiram com finalidade de descreverem o novo gênero, pois foi observado que suas cepas
680 tinham potencial para causar infecções em animais e humanos.

681 Os enterococos são bactérias gram-positivas ovóides não formadoras de esporos que
682 existem individualmente ou em pares, e habitam o intestino de animais vertebrados e
683 invertebrados. Este gênero pertence ao filo *Firmicutes* da classe *Bacili*, ordem *Lactobacillales*
684 e família *Enterococcaceae*, (Fiore et al., 2019; García-Solache e Rice, 2019). Estas bactérias
685 são anaeróbias quimio-organotróficas facultativas com metabolismo homofermentativo e
686 pertencentes ao grupo de bactérias ácido lácticas (LAB's), assim como os *Bifidobacterium spp.*
687 e *Lactobacillus spp.* Este gênero compreende mais de 50 cepas e podem ser isoladas do solo,
688 da superfície da água do mar e em associações com plantas e produtos alimentícios fermentados
689 (Fiore et al., 2019; García-Solache, 2019).

690 Este gênero possui uma capacidade ampla de colonizar o trato digestivo, assim como,
691 multiplicar-se, pois apresentam características de permanecerem vivas em faixa de temperatura
692 e pH de grande amplitude, conseguem sobreviver à dessecação e crescer na presença de 6,5%
693 de NaCl e 40% de sais biliares (Lebreton et al., 2014).

694 Algumas das cepas pertencentes ao gênero são ligadas a infecções sistêmicas associadas
695 à saúde (Hanchi et al., 2018; Fiore et al., 2019; García-Solache e Rice, 2019), entretanto
696 pesquisas (Mannu et al., 2003) demonstraram que cepas enterocócicas sem atividade hemolítica
697 e não portadora de genes resistentes à citolisina e vancomicina podem ser consideradas seguras
698 e utilizadas como probiótico (Khan et al., 2010).

699 Os enterococos despertaram o interesse probiótico por apresentarem características de
700 resistência a sucos gástricos e por sua capacidade de produzir uma variedade específica de
701 bacteriocina, a enterocina, que age sobre as bactérias gram-positivas (Hanchi et al., 2018) em
702 particular, sobre o gênero *Listeria* (Khan et al., 2010). Os *E. faecium* e *E. faecalis* são os
703 maiores produtores dessas bacteriocinas, por isso os estudos estão mais voltados para o
704 potencial probiótico destas cepas (Hanchi et al., 2018).

705 A suplementação de cepas enterocócicas, como *E. faecium* por exemplo, podem
706 melhorar o desempenho produtivo das aves através da modulação da microbiota residente,
707 através da diminuição do pH luminal e produção de bacteriocinas, tornando o meio inóspito
708 para a proliferação de cepas patogênicas (*E. coli*, *Salmonella spp.*), e favorável as cepas
709 benéficas, como *Lactobacillus spp.* que se desenvolvem em meio levemente ácido (Khan et al.,
710 2010).

711 A suplementação do probiótico *E. faecium* (6×10^8 UFC / kg) pode levar ao aumento
712 nos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, na classe *Bacteroidia* e *Clostridia*, na ordem
713 *Bacteroidales* e *clostridiales*, e na família *Lachnospiraceae*, além de promover enriquecimento
714 no filo *Proteobacteria* e na classe *Gammaproteobacteria*, constata a pesquisa de Wang et al.
715 (2021), com aves matrizes.

716 Essa modulação microbiana influencia em toda fisiologia e metabolismo da ave, pois
717 estimula potencialmente a atividade das enzimas digestivas, melhorando a absorção e digestão
718 de nutrientes, assim como, promove redução de amônia e sulfeto de hidrogênio por haver maior
719 aproveitamento do nitrogênio, aumento de órgãos linfóides como a Bursa de Fabricius (Lan et
720 al., 2017), aumento do desempenho produtivo, elevação de níveis séricos do hormônio folículo-
721 estimulante (FSH) (Wang et al., 2021), aumento no peso do baço, maior comprimento de órgãos
722 intestinais como jejuno, íleo e ceco (Castañeda et al, 2021).

723 **2.5. Simbiótico**

724 O termo simbiótico foi formado a partir do prefixo grego “syn”, que significa “junto”,
725 e do sufixo “biótico”, que significa “pertencente à vida” (Swanson et al., 2020). foi descrito

726 pela primeira vez em 1995 por Gibson e Roberfroid, definido como “uma mistura de probióticos
727 e prebióticos que afeta beneficemente o hospedeiro, melhorando a sobrevivência e implantação
728 de suplementos alimentares microbianos vivos no trato GI, estimulando seletivamente o
729 crescimento e / ou ativação do metabolismo de uma ou de um número limitado de bactérias
730 promotoras da saúde, melhorando assim o bem-estar do hospedeiro” (Gibson e Roberfroid,
731 1995).

732 Posteriormente estudos sugeriram novos conceitos sobre o termo “Simbiótico”. Silva e
733 Filho, (2000), destaca que dentro da classe de alimentos funcionais os aditivos simbióticos vêm
734 a ser uma mistura de probióticos e prebióticos em um só produto, trazendo além de
735 componentes da microbiota intestinal, também substâncias que estimulem o desenvolvimento
736 e a atividade desta mesma microbiota privilegiando além do bem-estar do hospedeiro, também
737 o seu desenvolvimento.

738 Alloui et al. (2013), conceituaram os simbióticos como sendo suplementos nutricionais
739 que combinam probióticos e prebióticos de forma sinérgica. Segundo os mesmos autores uma
740 das principais razões para o uso de um simbiótico é a concepção de que um probiótico, sem seu
741 substrato prebiótico, não sobrevive bem no sistema digestivo.

742 Em 2017 o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal definiu o simbiótico como
743 “misturas de probióticos e prebióticos que afetam beneficemente o hospedeiro melhorando a
744 sobrevivência e implantando suplementos vivos no trato gastrointestinal” (Reis e Vieites,
745 2019).

746 Atualmente o termo “Simbiótico” foi redefinido pela Associação Científica
747 Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP), como sendo “uma mistura que
748 compreende microrganismos vivos e substratos utilizados seletivamente por microrganismos
749 hospedeiros benéficos que confere um benefício à saúde do hospedeiro” (Swanson et al., 2020).
750 Ainda segundo o órgão ISAPP existem duas categorias de simbióticos reconhecidas, os
751 complementares e os sinérgicos.

752 Um simbiótico complementar é composto por um probiótico e um prebiótico (mais de
753 um componente pode ser utilizado), trabalham de forma independente para alcançar um ou mais
754 benefícios à saúde do hospedeiro, não requerendo funções co-dependentes, seus componentes
755 devem ser administrados em doses que se mostrem eficazes apenas para os componentes. Já o

756 simbiótico sinérgico é composto por microrganismos vivos e substratos, sendo projetados para
757 trabalharem em conjunto (não independentemente) ou seja, os substratos sendo utilizados
758 seletivamente pelos microrganismos vivos administrados, trazendo saúde aos hospedeiros
759 (Swanson et al., 2020).

760 Dentre os tipos de simbióticos existentes, o que mais se utiliza em ensaios laboratoriais
761 ligado à área de ciência animal é o sinérgico, devido a ação conjunta de seus constituintes
762 (probióticos e prebióticos) em benefício à saúde do hospedeiro. Um dos possíveis motivos em
763 explorar o efeito sinérgico em um simbiótico, seria o fato em superar algumas dificuldades
764 encontradas quando ministrados apenas um componente. Nesse aspecto, a combinação
765 adequada de ambos os componentes em um único produto deve garantir um efeito superior, em
766 comparação com a atividade do probiótico ou prebiótico sozinho (Bengmark, 2005; Markowiak
767 e Slizewska, 2018).

768 De modo geral o mecanismo de ação do simbiótico sobre a saúde animal está ligado ao
769 fato de seus componentes favorecerem o equilíbrio sobre a microbiota intestinal através da
770 redução do pH luminal, tornando o meio propício ao crescimento de cepas bacterianas benéficas
771 que estimularão a produção de bacteriocinas que ajudam a inibir o crescimento de bactérias
772 patogênicas (Alavi et al., 2012) e enzimas pancreáticas para otimizar o aproveitamento dos
773 nutrientes provindos da dieta favorecendo o desempenho animal (Kuritza et al., 2014; Al-
774 Khalaifah, 2018; Forte et al., 2018).

775 Considerando um grande número de combinações possíveis de probióticos e
776 prebióticos, a aplicação de simbióticos para modulação da microbiota intestinal em animais
777 parece promissora. Várias são os estudos demonstrando os efeitos positivos dos simbióticos na
778 alimentação animal.

779 Luoma et al. (2017) analisando os efeitos inibitórios de um produto simbiótico (1,0 g/kg)
780 à base de *Lactobacillus reuteri*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Pediococcus*
781 *acidilactici* e frutooligossacarídeo nos parâmetros de produção, no perfil da microflora
782 intestinal e nos parâmetros imunológicos em galinhas poedeiras White Leghorn com e sem
783 desafio de *Salmonella*, observaram que, os animais submetidos aos tratamentos contendo o
784 aditivo simbiótico tiveram maior produção de ovos, menor infecções por *Salmonella*, fato

785 justificado pelas maiores concentrações de imunoglobulinas do tipo A (IgA), caracterizando
786 maior proteção para as aves.

787 Abdel-Wareth et al. (2019), avaliando os efeitos de um aditivo simbiótico a base de
788 *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri*, *Pediococcus acidilactici*, *Bifidobacterium*
789 *animalis* (probióticos) e Frutooligossacarídeo (prebiótico), na dieta de frangos de corte em
790 condições climáticas quente, observaram efeitos positivos sobre o desempenho produtivo,
791 qualidade da carne, redução dos níveis de amônia das excretas, bem como a redução dos níveis
792 de bactérias patogênicas no animal.

793 Jiang et al. (2020), avaliando o efeito de um simbiótico à base de *Pediococcus*
794 *acidilactici*, *Bifidobacterium animalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteris*
795 (*probióticos*) e fruto-oligossacarídeos (Prebiótico) nas concentrações de (0,5 e 1,0 g/kg), em
796 frangos de corte Ross 708 submetidos a estresse térmico cíclico (HS), observaram que sob
797 condições de HS, ambos os grupos alimentados com simbiótico tinham níveis mais baixos de
798 expressões de proteína de choque térmico (HSP70), e que o nível 1,0 g/kg ofereceu maior altura
799 de vilosidades no duodeno, e maior relação vilosidade : profundidade de cripta, demonstrando
800 assim, que o aditivo simbiótico utilizado pode ser uma estratégia para melhorar a saúde e bem
801 estar de aves quando expostas a altas temperaturas.

802 Kridtayopas et al. (2019), investigou o efeito de um prebiótico (0,1%) a base de
803 mananoligossacarídeo (MOS) e um aditivo simbiótico (0,1%) a base de *Bacillus*
804 *subtilis* e *Bacillus licheniformis* (probiótico) e MOS (prebiótico) no desempenho de
805 crescimento e população bacteriana em condições de alta densidade de estocagem (HSD) em
806 frangos de corte Arbor Acres, onde os mesmos concluíram que, o uso do aditivo simbiótico
807 ofereceu maiores benefícios aos animais, quando comparados apenas a um de seus constituintes
808 – prebióticos, isso devido ao mecanismo de ação conjunto dos componentes do simbiótico.

809 **3. MATERIAL E MÉTODOS**

810 **3.1. Local experimental e comitê de ética**

811 O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa com aves (LAPAVE) do
812 Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), aprovado
813 pelo Comitê de Ética em Uso Animal local (processo 060/2019).

814 **3.2. Animais e delineamento experimental**

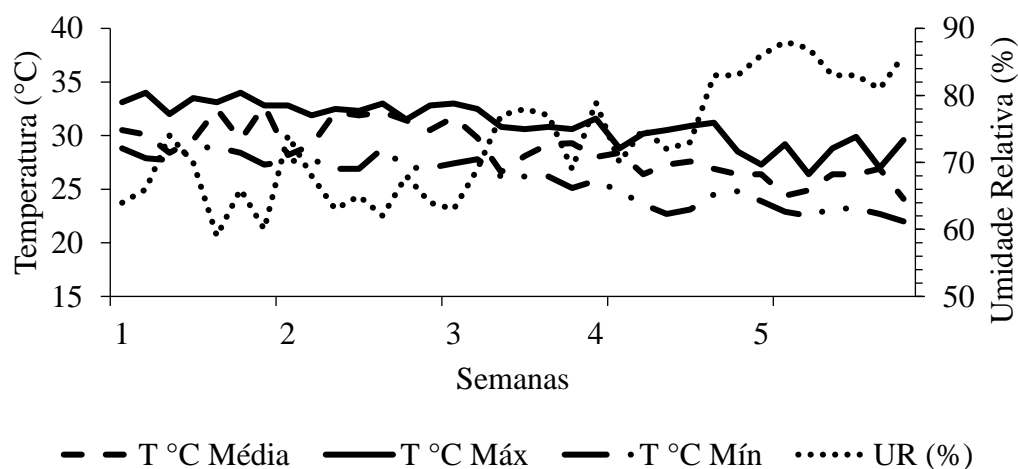
815 Para a realização do estudo, foram utilizadas 1040 aves da linhagem Dekalb White, com
 816 1 dia de idade, sendo estas distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com 4
 817 tratamentos e 10 repetições, com 26 aves por unidade experimental. O estudo teve duração de
 818 35 dias ao todo, condizendo com as 5 primeiras semanas de vida das pintainhas.

819 3.3. Alojamento e manejo das aves

820 As aves foram alojadas em galpão de alvenaria dotada de gaiolas metálicas (100 x 80 x
 821 50 cm) equipadas com 02 bebedouros tipo copo e um comedouro tipo calha, o galpão dispôs de
 822 sistemas de cortinas, ventiladores e iluminação com timer. A densidade de alojamento foi de
 823 307 cm²/ave. O programa de luz adotado seguiu o recomendado pela linhagem (Manual de
 824 Manejo das Poedeiras Dekalb White, 2009), onde a primeira semana forneceu 24 horas de luz,
 825 sendo reduzida 1 hora por dia a partir da primeira semana.

826 Aos 7 dias de idades todas as aves foram debicadas pelo método convencional. Ao longo
 827 da fase as pintainhas foram imunizadas contra bronquite infecciosa das galinhas (7 e 28 dias),
 828 doença de Newcastle (7 e 28 dias), pneumovirose (21 dias), coriza (35 dias) e micoplasma (35
 829 dias).

830 A temperatura e umidade relativa do ar foram monitoradas por termohigrometro durante
 831 todo período experimental, obtendo as seguintes médias $28,53 \pm 2,40$; $31,80 \pm 2,01$; $25,68 \pm$
 832 $2,20$ e $70,23 \pm 8,59$ para temperatura ambiente (T °C Média), máxima (T °C Máx), mínima (T
 833 °C Mín) e umidade relativa do ar (UR %), respectivamente (Figura 1).



835 **Figura 1.** Variações médias de temperatura (T, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) durante
 836 o período experimental.

837 **3.4. Dietas experimentais**

838 As rações foram formuladas a base de milho e farelo de soja e acrescidos de farinha de
839 carne e ossos (Tabela 3), formuladas de acordo com as exigências nutricionais das aves
840 conforme o Manual da Linhagem DEKALB (Manual de Manejo das Poedeiras Dekalb White,
841 2009) e a Tabela Brasileira para Aves e Suínos (Rostagno, 2017).

842 Os tratamentos foram compostos de duas rações referências, sendo uma composta de
843 milho e farelo de soja (RR) e a outra composta de milho, farelo de soja e farinha de carne e
844 ossos (FCO), ambas sem aditivos. Para compor a ração três foi usado FCO + 0,05% do aditivo
845 Bacitracina de Zinco (Bac Zn) e para a ração quatro usou FCO + 0,1% do aditivo Simbiótico.
846 A composição do simbiótico utilizado segue na tabela 4.

847 **3.5. Análise microbiológica**

848 Alíquotas das rações experimentais e do ingrediente farinha de carne e ossos foram
849 encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico em Microbiologia – LADA, para realizar análises
850 microbiológicas para as cepas de *Salmonella sp.*, *Escherichia coli* e *Clostridium sp.* As rações
851 RR e FCO apresentaram concentração de *Clostridium* de 2500 UFC/g e 110 UFC/g,
852 respectivamente, e para as demais rações e a farinha de carne e ossos não houve contaminação
853 por nenhuma das cepas analisadas.

854 **3.6. Avaliação de desempenho zootécnico**

855 A avaliação de desempenho das aves, ocorreu através da mensuração do peso corporal
856 (PC), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e cálculo da conversão alimentar (CA). Para
857 o consumo de ração (g/ave/dia), as sobras eram quantificadas semanalmente. Para efeito de
858 correção da conversão alimentar, as aves mortas foram pesadas, assim como, a parcela
859 experimental e as sobras de ração, conforme metodologia descrita por Sakomura e Rostagno
860 (2007).

861 **3.7. Coleta sanguínea**

862 Aos 35 dias de idade foram coletadas amostras de sangue da veia jugular de 1 ave por
863 parcela sendo coletado 4 ml de sangue por ave para realizar as análises hematológicas
864 destacando as variáveis sanguíneas: hemácia, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, proteínas
865 plasmáticas totais, leucócitos, heterofilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos.

866 **Tabela 3.** Composição das dietas experimentais

Ingredientes %	T1 (RR)	T2 (FCO)
Milho	59,349	59,403
Farelo de Soja 46%	36,220	33,762
Farinha de Carne e Ossos 35%	----	2,512
Óleo de soja	0,559	0,539
Calcário	1,162	0,801
Fosfato Bicálcico	0,744	----
Sal	0,205	0,169
Bicarbonato de Sódio	0,150	0,150
Premix Vitamínico ¹	0,150	0,150
Premix. Mineral ²	0,050	0,050
DL-metionina 99%	0,232	0,246
L-Lisina HCL 78,8%	0,166	0,191
L-treonina 98,5%	0,009	0,022
Fitase ³	0,006	0,006
Inerte	1,000	2,000
Total	100,00	100,00
Composição Nutricional Calculada (%)		
EM (kcal/kg)	2950,000	2950,000
Proteína Bruta	21,410	21,410
Cálcio	0,970	0,970
Fósforo Disponível	0,437	0,450
Sódio	0,180	0,180
Cloro	0,194	0,187
Potássio	0,853	0,822
Aminoácido Digestíveis (%)		
Metionina + Cistina	0,859	0,859
Metionina	0,525	0,535
Lisina	1,161	1,161
Treonina	0,778	0,778
Triptofano	0,267	0,257
Leucina	1,674	1,644
Arginina	1,345	1,337
Fenilalanina + tirosina	1,707	1,656
Valina	0,920	0,905

867 ¹ Premix Vitamínico (fornece por quilograma do produto): vit. AD3, 0,000 KUI; vit. A, 7.700,000 KUI;
868 vit. D3, 3.300,000 KUI; vit. E, 6.600,000 UI; vit. K3 (Menadiona) 550,000 mg; vit. B2 (Riboflavina)
869 4.400,000 mg; Niacina (Ac. Nicotínico) 22.000,000 mg; Ac. Pantotênico, 5.500,000 mg; Ac. Fólico,
870 110,000 mg.

871 ² Premix Mineral (fornece por quilograma do produto): Cobre, 4.400,000 mg; Ferro, 33.000,000 mg;
872 Manganês, 66.000,000 mg; Iodo, 900,000 mg; Zinco, 66.000,000 mg; Selênio, 300,000 mg; Biotina,
873 55,000 mg; Calcário, 0,000 g.

874 ³ Fitase: 10,000 FTU/g.

875

876 **Tabela 4.** Níveis de garantia por quilograma do simbiótico

Componentes	Quantidade
Proteína Bruta (mínimo)	132,00 g/kg
L-lisina (mínimo)	3.900,00 mg/kg
Metionina (mínimo)	4.950,00 mg/kg
Cálcio (mínimo/máximo)	85,6800/112,42 g/kg
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (mínimo)	2,00 x 10 E11 UFC/kg
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (mínimo)	2,00 x 10 E11 UFC/kg
<i>Bacillus subtilis</i> (mínimo)	2,88 x 10 E11 UFC/kg
<i>Enterococcus faecium</i> (mínimo)	2,08 x 10 E11 UFC/kg
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (mínimo)	1,04 x 10 E11 UFC/kg
Glucanos (mínimo)	52,00 g/kg
Mananos (mínimo)	28,00 g/kg
Baunilha (mínimo)	2.500,00 mg/kg
Umidade (máximo)	28,00 g/kg
Extrato Etéreo (mínimo)	1.000,00 mg/kg
Fibra Bruta (máximo)	18,00 g/kg
Matéria Mineral (máximo)	377,50 g/kg
Fósforo (mínimo)	4.361,00 mg/kg

877

878 As amostras sanguíneas foram enviadas ao laboratório especializado – LaborVet. A
879 contagem das hemácias, leucócitos e plaquetas foram realizadas em câmara de Neubauer, após
880 diluição com o reagente Natt-Herrick. O hematócrito foi obtido através do método do
881 microcapilar e a mensuração da proteína plasmática total por refratometria.

882 Para as de bioquímica sérica (fosfatase alcalina, albumina, ureia, creatinina, proteínas
883 totais, globulina, glutamil transferase, aspartato aminotransferase, amino transferase) foram
884 coletadas amostras de 2 aves por parcela sendo coletado 4 ml de sangue por ave, na idade 35
885 dias. As amostras de bioquímica sérica foram enviadas ao Laboratório de Biologia Molecular
886 Aplicada à Produção Animal (BIOPA) pertencente à UFRPE.

887

888 **3.8. Abate e peso de órgãos**

889 Ao final do experimento (35 dias) uma ave por unidade experimental foi selecionada
890 dentro do peso médio da parcela e abatida por deslocamento cervical, para coleta dos órgãos:
891 Bursa de Fabricius, timo, baço, fígado, pâncreas, intestino delgado e grosso. Todos os órgãos
892 foram pesados em balança analítica exceto o intestino por conter digesta, e posteriormente o
893 intestino delgado e ceco foram mensurados o comprimento.

894 **3.9. Estatística**

895 Os dados de desempenho das aves, variáveis sanguíneas, peso e comprimento dos
896 órgãos foram analisados pelo PROC GLM do programa Statistical Analysis System versão 9.4
897 sendo as médias comparadas pelo teste de Contraste Ortogonal ($P \leq 0,05$). Os contrastes
898 consistiram em **C1: RR vs FCO**; **C2: FCO vs Bac Zn**; e **C3: Bac Zn vs Simb-C**.

899 O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$900 Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

901 Onde: Y_{ij} = observação (desempenho zootécnico das aves, peso de órgãos e variáveis
902 sanguíneas), μ = constante média da população comum a todas as observações, T_i = efeito da
903 dieta e ϵ_{ij} = termo de erro aleatório.

904 **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

905 **4.1. Resultado de desempenho**

906 Os resultados de desempenho das aves poedeiras na fase de cria estão sumarizados na
907 tabela 5. Durante o período de 1 a 7 dias de idade das aves, não foi observado diferença
908 estatística ($P > 0,05$) para as variáveis de desempenho: PC, GP, CR e CA, dentre os tratamentos
909 contrastados.

910 As médias de desempenho das pintainhas de 1-14 dias apresentaram efeito significativo
911 nos contrastes C1, C2 e C3. Para o C1 houve diferença entre os tratamentos referência para PC
912 e CR, onde as aves que receberam RR apresentaram menor PC e maior consumo. No C2, houve
913 diferença para as variáveis de PC e GP mostrando que as aves que consumiram dieta contendo
914 bacitracina de zinco (Bac Zn) apresentaram melhor peso

915 **Tabela 5.** Dados de desempenho acumulado de aves poedeiras comerciais Dekalb White de 1
 916 a 35 dias de idade

TRATAMENTOS	PC (g/ave)	GP (g/ave)	CR (g/ave)	CA
1 – 7 Dias				
RR	67,90	33,40	63,56	1,898
FCO	68,30	34,00	61,83	1,878
Bac Zn	67,70	33,30	61,70	1,857
Simb-C	68,00	33,80	62,56	1,791
Média Geral	67,98	33,63	62,07	1,853
SEM	0,249	0,270	0,346	0,014
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)				
C1	0,395	0,448	0,711	0,622
C2	0,669	0,899	0,231	0,296
C3	0,395	0,612	0,622	0,212
1 – 14 Dias				
RR	117,11	83,30	168,47	2,025
FCO	119,00	84,80	174,31	2,056
Bac Zn	120,20	85,90	170,45	1,985
Simb-C	119,30	85,78	166,73	1,947
Média Geral	118,95	84,92	169,99	2,005
SEM	0,402	0,379	1,043	0,015
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)				
C1	0,057*	0,137	0,042*	0,407
C2	0,003*	0,012*	0,479	0,286
C3	0,006*	0,020*	0,533	0,049*
1 – 21 Dias				
RR	194,70	160,30	333,72	2,077
FCO	197,44	163,22	337,86	2,070
Bac Zn	197,78	163,44	329,03	2,038
Simb-C	198,80	164,60	328,62	1,998
Média Geral	197,16	162,87	332,49	2,045
SEM	0,779	0,782	1,324	0,012
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)				
C1	0,216	0,188	0,219	0,820
C2	0,166	0,157	0,214	0,257
C3	0,061	0,050*	0,124	0,011*

	1 – 28 Dias			
RR	281,50	247,13	529,60	2,125
FCO	288,90	254,70	537,23	2,109
Bac Zn	291,20	256,90	497,34	1,936
Simb-C	286,70	252,50	528,81	2,094
Média Geral	287,37	253,11	523,08	2,063
SEM	0,985	0,990	4,990	0,020
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)				
C1	0,005*	0,004*	0,558	0,740
C2	<0,001*	<0,001*	0,017*	<0,001*
C3	0,042*	0,036*	0,951	0,522
	1 – 35 Dias			
RR	364,00	329,67	760,24	2,313
FCO	368,20	332,44	770,80	2,312
Bac Zn	373,30	340,89	725,22	2,127
Simb-C	363,40	331,56	754,87	2,288
Média Geral	367,56	333,64	752,78	2,260
SEM	1,407	1,370	5,183	0,020
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)				
C1	0,276	0,425	0,423	0,983
C2	0,019*	0,003*	0,011*	<0,001*
C3	0,917	0,586	0,682	0,566

917 RR: Ração Referência; FCO: Farinha de Carne e Ossos; Bac Zn: Bacitracina de zinco; Simb-C:
 918 Simbiótico; C1: RR vs FCO; C2: FCO vs Bac Zn; C3: Bac Zn vs Simb-C; SEM: Erro Padrão da Média;
 919 CA: Conversão Alimentar; CR: Consumo de Ração; GP: Ganho de Peso na respectiva idade; PC: Peso
 920 Corporal; g: Gramas.

921 e ganho no período. O C3 mostrou diferença para o PC, GP e CA, mostrando que aves que
 922 foram suplementadas com o aditivo simbiótico (Simb-C) apresentou menor PC, menor GP, mas
 923 houve melhor CA para o período, o contrário das aves que receberam dieta Bac Zn.

924 Os dados acumulados de 1-21 dias apresentaram diferença estatística para as variáveis
 925 GP e CA no contraste 3, onde o tratamento Simb-C apresentou maiores médias para as
 926 variáveis.

927 No período de 1-28 dias, foi observado diferença estatística para PC e GP em todos os
 928 contrastes, havendo também diferença nas médias de CR e CA apenas para o contraste 2. Para
 929 a variável PC e GP as pintainhas que consumiram FCO obtiveram melhor peso quando

930 comparada a dieta RR; para o contraste 2 e 3 o PC foi maior para aves alimentadas Bac Zn. No
 931 contraste 2 o CR e CA foi maior para as aves alimentadas com a bacitracina em relação a FCO.
 932 De 1-35 dias de idade o contraste FCO vs Bac Zn demonstrou melhor PC, GP, CR e CA, para
 933 a Bac Zn.

934 **4.2.Resultado de mensurações de órgãos**

935 O peso dos órgãos e comprimento (Tabela 6) não se diferiram entre si, exceto para o
 936 peso de bursa no contraste e fígado nos contrastes 1 e 3, e comprimento de ceco no contraste 1.
 937 Para peso de bursa, as aves que foram suplementadas com o aditivo bacitracina apresentou
 938 maior peso deste órgão em contraste com a dieta FCO. Para o fígado os tratamentos RR e Bac
 939 Zn apresentaram maiores pesos dentro de seus contrastes. Já o comprimento de ceco foi maior
 940 para as aves alimentadas com a dieta RR.

941 **Tabela 6.** Peso (g) e comprimento (cm) dos órgãos de aves poedeiras comerciais Dekalb White
 942 aos 35 dias de idade

TRATAMENTOS	TIM (g)	BÇO (g)	BSA (g)	PNC (g)	FGD (g)	CID (cm)	CCECO (cm)
RR	2,81	0,92	2,72	1,57	13,27	92,52	9,17
FCO	2,37	0,84	2,59	1,52	11,60	92,12	8,44
Bac Zn	3,03	0,91	2,68	1,51	12,90	90,43	8,94
Simb-C	2,59	0,80	2,25	1,49	11,71	91,19	8,81
Média	2,76	0,87	2,56	1,52	12,37	91,03	8,90
SEM	0,099	0,026	0,076	0,032	0,224	0,779	0,107
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)							
C1	0,108	0,332	0,549	0,570	0,006*	0,864	0,015*
C2	0,412	0,946	0,865	0,556	0,517	0,356	0,426
C3	0,436	0,131	0,031*	0,401	0,009*	0,556	0,230

943 RR: Ração Referência; FCO: Farinha de Carne e Ossos; Bac Zn: Bacitracina de zinco; Simb-C:
 944 Simbiótico; C1: RR vs FCO; C2: FCO vs Bac Zn; C3: Bac Zn vs Simb-C; SEM: Erro Padrão da Média;
 945 g: Gramas; TIM: Timo; BÇO: Baço; BSA: Bursa; PNC: Pâncreas; FGD: Fígado; CID: Comprimento de
 946 Intestino Delgado; CCECO: Comprimento de Ceco; cm: Centímetro; SEM: Erro Padrão da Média.

947 **4.3.Resultado de variáveis sanguíneas**

948 Para as variáveis hematológicas (Tabela 7) não houve diferença estatística ($P>0,05$)
 949 entre as médias dos tratamentos contrastados. A adição de aditivos não influenciou nas médias
 950 dos grupos para as variáveis.

951 **Tabela 7.** Variáveis hematológicas de aves poedeiras comerciais Dekalb White aos 35 dias de idade

TRATAMENTOS	HEM (mm ⁶)	HEMO (g/gl)	HEMA (%)	PLAQ (mm ³)	PPT (g/dl)	LET (mm ³)	HETE (und)	LINF (und)	EOS (und)	MON (und)
RR	1891,11	11,11	33,30	4300,00	4,71	209,72	5267,30	15468,70	164,10	298,67
FCO	1876,00	11,56	34,10	3800,00	4,61	203,25	5786,30	14113,30	200,00	225,60
Bac Zn	2191,00	11,16	34,22	4600,00	4,62	192,00	5143,60	13434,80	201,30	349,33
Simb-C	2297,50	11,47	34,30	4200,00	4,55	203,75	4516,30	15458,30	180,30	220,40
Média	2068,33	11,33	33,97	4225,00	4,62	201,99	5178,38	14597	186,43	270,84
SEM	0,284	0,433	0,646	0,872	0,949	0,932	0,837	0,659	0,990	0,120
Efeito dos Contrastes (<i>p-value</i>)										
C1	0,899	0,177	0,361	0,608	0,714	0,830	0,710	0,511	0,780	0,227
C2	0,279	0,879	0,307	0,758	0,742	0,525	0,929	0,315	0,773	0,431
C3	0,138	0,277	0,255	0,918	0,559	0,845	0,591	0,968	0,900	0,195

952 RR: Ração Referência; FCO: Farinha de Carne e Ossos; Bac Zn: Bacitracina de zinco; Simb-C: Simbiótico; C1: RR vs FCO; C2: FCO vs FCO+Bac Zn; C3:
953 FCO+Bac Zn vs FCO+Simb-C; HEM: Hemácias; HEMO: Hemoglobina; HEMA: Hematócrito; PLAQ: Plaquetas; PPT: Proteínas Plasmáticas Totais; LET:
954 Leucócitos; HETE: Heterofilos; LINF: Linfócitos; EOS: Eosinófilos; MON: Monócitos; SEM: Erro Padrão da Média;; und: Unidade; dl: decilitro; g: Grama;
955 gl: Grau Lussac; mm: milímetro; %: Porcentagem.

956 **Tabela 8.** Variáveis de bioquímica sérica de aves poedeiras comerciais Dekalb White aos 35 dias de idade

TRAT	FA (U/L)	CREA (mg/dl)	UREIA (mg/dl)	ALB (g/L)	PTNT (g/L)	GLOB (g/L)	GGT (U/L)	TGP (U/L)	TGO (U/L)
RR	3302,88	0,22	2,78	8,24	62,46	55,04	34,17	5,67	183,84
FCO	2961,53	0,26	2,93	8,13	62,98	54,84	26,45	4,75	206,18
FCO + Bac Zn	2537,80	0,28	3,22	8,03	62,36	54,29	27,66	4,81	198,82
FCO + Simb-C	2766,32	0,22	4,08	8,39	62,58	48,33	24,10	4,28	193,71
Efeito dos Contrastes (<i>P-Value</i>)									
C1	0,098*	0,025*	0,567	0,806	0,737	0,891	<0,001*	0,076	0,056
C2	<0,001*	<0,001*	0,109	0,642	0,950	0,592	0,001*	0,092	0,151
C3	0,010*	0,978	<0,001*	0,820	0,940	<0,001*	<0,001*	0,006*	0,349
Médias	2876,45	0,25	3,24	8,13	62,60	53,58	27,59	4,86	194,59
SEM	76,10	0,006	0,108	0,165	0,544	0,581	0,763	0,181	3,879

957 RR: Ração Referência; FCO: Farinha de Carne e Ossos; Bac Zn: Bacitracina de zinco; Simb-C: Simbiótico; C1: RR vs FCO; C2: FCO vs FCO+Bac Zn; C3:
958 FCO+Bac Zn vs FCO+Simb-C; FA: Fosfatase Alcalina; CREA: Creatinina; ALB: Albumina; PTNT: Proteínas Totais; GLOB: Globulina; GGT: Glutamil
959 transferase; TGP: Aspartato Transferase; TGO: Amino Transferase; SEM: Erro Padrão da Média; dl: decilitro; g: Grama; L: litro; mg: miligrama; U: unidade.

960 Para as variáveis sanguíneas de bioquímica sérica apresentadas na tabela 8, a albumina
961 (ALB), proteínas totais (PTNT) e amino transferase (TGO) não apresentaram
962 diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos quando aplicado os contrastes. As
963 demais variáveis foram significativas ao teste ($P < 0,05$).

964 O contraste 1 apresentou efeito significativo para a fosfatase alcalina (FA), creatinina
965 (CREA) e Glutamil transferase (GGT), onde as maiores médias de FA e GGT e menor valor de
966 CREA foram para o tratamento FCO.

967 No contraste 2 a CREA e GGT, apresentaram maiores médias para a dieta Bac Zn
968 obtendo apenas valor de média menor para a variável FA, comparada a dieta FCO.

969 Por fim o contraste entre os aditivos (C3), houve diferença estatística para as variáveis
970 FA, ureia, globulina (GLOB), GGT e TGP, onde o simbiótico apresentou maiores médias para
971 FA e ureia, sendo as demais variáveis menores quando comparadas a dieta com bacitracina.

972 **4.1. Discussão**

973 A infestação e proliferação bacteriana no trato gastrointestinal (TGI) das aves, ocorre
974 principalmente após a eclosão dentre os primeiros dias de vida (1 – 3 dias) primordialmente
975 através das dietas, sendo notório a partir do sétimo dia de idade a presença da maioria das
976 famílias e gêneros de bactérias e leveduras encontradas no TGI das aves adultas (Khan et al.,
977 2020). Entretanto, há variações nas populações das colônias ao longo da fase de cria (1 – 35
978 dias), desta forma a microbiota é reconhecida como estável após 49 dias de idade (Macari et
979 al., 2014; Al-Khalaifah, 2018; Feitosa et al., 2020). Dentre esta fase inicial, as idades de 14, 21
980 e 28 dias há pouca alteração na microbiota (Macari et al., 2014).

981 Devido a esta instabilidade na microbiota intestinal, Reis et al. (2014), ao trabalharem
982 com bacitracina de zinco na alimentação de frangos de corte, não obteve resultados no
983 desempenho das aves para a fase inicial (1 – 7 dias). O mesmo ainda relata que só é possível
984 detectar mudança significativa após o período inicial, pois é onde a diversidade microbiana
985 começa a ser estabelecida. Tais afirmativas confirmam os resultados da presente pesquisa.

986 A utilização de ingredientes considerados desafio em potencial como a farinha de carne
987 e ossos nos primeiros dias de vida de aves poedeiras não é comum, por apresentarem risco de
988 contaminação por microrganismos e/ou presença de peróxidos, que deprimiriam o

989 desenvolvimento animal. Entretanto quando bem processado, armazenado, manuseado e
990 introduzidos as dietas, possibilita melhorias no desempenho animal por ser fonte de fosforo,
991 cálcio, energia e proteína (Munoz et al., 2018; Zanu et al., 2020), otimizando o aproveitamento
992 dos nutrientes do alimento, justificando os resultados de desempenho do contraste 1.

993 Os aditivos equilibradores de microbiota intestinal são introduzidos às rações por vários
994 motivos, dentre eles está a utilização como promotores de crescimento melhorando o
995 desempenho animal através da modulação da microbiota (Lan et al., 2017) e conseqüentemente
996 por amenizarem do impacto negativo de fatores estressantes, como a debicagem (Al-Khalaifah,
997 2018).

998 Os efeitos notados no período de 1-14 dias também foram influenciados pela prática da
999 debicagem, que gerou um consumo irregular e insatisfatório o que não atendeu a demanda
1000 nutricional do animal. Foi notório a queda no desempenho produtivo ao comparar com o padrão
1001 do manual da linhagem, porém foi observado que as aves alimentadas com os aditivos
1002 bacitracina e simbiótico responderam melhor ao estresse provocado, sendo visível a
1003 sobreposição de desempenho destas aves sobre as demais.

1004 Janczak e Riber (2015), afirmaram que o consumo nutricionalmente irregular e
1005 insatisfatório gera deficiência no desempenho zootécnico, por isso o uso de promotores de
1006 crescimento que favoreçam a microbiota indígena é perspicaz, assim como na integridade dos
1007 enterócitos favorecendo a digestão e absorção dos nutrientes da dieta (Pourabedin e Zhao, 2015;
1008 Khan et al., 2020). Deste modo, há grande importância na utilização de aditivos equilibradores
1009 de microbiota intestinal que atuem na contenção dos impactos negativos.

1010 A bacitracina de zinco por muito tempo foi utilizada como aditivo nas dietas por ser um
1011 antibiótico polipeptídico não ribossomal de amplo espectro, com ação sobre as Gram-positivas,
1012 produzidas pelos *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*. Seu efeito bactericida elimina
1013 bactérias patogênicas por mecanismos que afetam a permeabilidade da membrana plasmática
1014 bacteriana, facilitando o movimento descontrolado de íons como o zinco através da mesma
1015 desestabilizando o meio intracelular ocasionando o rompimento da membrana (Pavli e Kmetec,
1016 2006).

1017 Esse mecanismo de ação tem resposta rápida no desempenho animal, já que haverá uma
1018 redução na carga bacteriana no TGI, melhorando a microbiota, integridade das células

1019 intestinais e conseqüentemente a digestão e absorção de nutrientes. Por isso é notório a
1020 diferença na performance da pintainha quando contrastado a dieta FCO vs Bac Zn.

1021 Entretanto o desuso dos antibióticos é uma realidade e a sua substituição por produtos
1022 naturais já ultrapassou a ideia de alternativa. O simbiótico estudado mostrou alto potencial de
1023 substituição ao se igualar à CA do antibiótico na fase de cria.

1024 O simbiótico atingiu o objetivo de substituição por possuir cepas que auxiliam na
1025 atividade enzimática no TGI melhorando a digestão dos nutrientes através redução do pH no
1026 íleo e ceco ocasionado pelos *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium*
1027 *bifidum* e *Bacillus subtilis* que são formadores de ácido láctico (exceto o *B. subtilis*) e ácidos
1028 graxos de cadeia curta, como o acetato, propionato e butirato (Jacquier et al., 2019; Wu et al.,
1029 2019), produção de bacteriocinas (Abou-Kassem et al., 2020), além de causarem hiperplasia
1030 em células caliciformes estimulando a produção de mucina formando uma barreira natural
1031 dificultando a aderência de patógenos a mucosa (Forte et al., 2018).

1032 As demais cepas utilizadas no simbiótico estudado, como a *Saccharomyces cerevisiae*
1033 tem a capacidade de aumentar a produção de enzimas pancreáticas melhorando a digestibilidade
1034 pelo animal, além de reduzir os efeitos tóxicos de agentes contaminantes como as aflotoxinas
1035 (Matur et al., 2010). Outros benefícios são implementados a saúde da ave através do
1036 *Enterococcus faecium*, que contribui no combate de patógenos como, *E.coli* e *Salmonella sp.*,
1037 além da diminuição de amônia e coliformes (Lan et al., 2017), modulação do perfil bioquímico
1038 sanguíneo, regulação dos perfis de proteoma intestinal e hepático (Zheng et al., 2016).

1039 Os prebióticos também contidos no aditivo testado possuem a finalidade de servir como
1040 substrato para os probióticos fornecidos e para as bactérias residentes, além da formação de
1041 barreira protetora na parede intestinal e adsorção de microrganismos patogênicos (Pourabedin
1042 e Zhao, 2015; Ricke et al., 2020). Ao serem degradados pelas bactérias alvo há produção de
1043 ácidos graxos de cadeia média que são liberados no lúmen intestinal, ocasionando a diminuição
1044 do pH luminal. Esta leve acidificação trará o ambiente inóspito para a colonização e
1045 proliferação de cepas patogênicas.

1046 Desta forma, a atuação de aditivos (antibióticos e simbióticos) aumentam a
1047 disponibilidade de nutrientes, devido a modulação gastrointestinal por dos estímulos e
1048 metabolitos gerados pela microbiota residente, causando influência em órgãos específicos como

1049 o fígado que é responsável pela metabolização de nutrientes e neutralização de toxinas
1050 provindas do organismo do animal (Boratto et al., 2004).

1051 A dieta RR apresentou hipertrofia hepática assim como a dieta Bac Zn, entretanto a dieta
1052 referência por haver a presença da cepa *Clostridium sp.* em maior concentração em comparação
1053 a ração FCO, provavelmente houve elevada produção de toxinas provindas de cepas patogênicas
1054 aumentando a atividade do fígado para realizar a neutralização e assim aumentando a demanda
1055 de energia pelas células hepáticas (Boratto et al., 2004).

1056 Em contra partida a Bac Zn por controlar a microbiota e favorecer a digestibilidade,
1057 haverá maior disponibilidade de compostos nutritivos e energia aumentando o peso devido ao
1058 aumento da taxa de metabolização (Boratto et al., 2004).

1059 O comprimento ceco foi influenciado por esta contaminação na dieta RR, no qual houve
1060 maior comprimento do órgão, devido a produção de toxinas microbianas pode induzir a
1061 hipertrofia do órgão devido a sua alta atividade e a produção de gases, como o butirato (Khan
1062 et al., 2020).

1063 A bursa também foi afetada pela administração dos aditivos da pesquisa. Contudo, a
1064 forma de atuação de cada aditivo sobre a microbiota indígena pode gerar respostas
1065 imunológicas diferentes. O controle microbiano ocasionado pelo antibiótico, pode levar a maior
1066 desafio por apenas influenciar grupo de bactérias específicas, desta forma haverá mais
1067 macrófagos fazendo o reconhecimento de microrganismo gerando resposta imunológica
1068 aumentando células de defesa B produzidas na bursa (Khan et al., 2020).

1069 Diferentemente, o simbiótico favorece as bactérias benéficas aumentando a população
1070 indígena pelo estímulo de ácidos lácticos e provocando a mortalidade de patógenos pelo
1071 movimento descontrolado de íons de hidrogênio através da membrana (Ricke et al., 2020),
1072 assim haverá menor número de bactérias malélicas e menor produção de células de defesas para
1073 o TGI.

1074 A modulação da microbiota residente gera respostas fisiológicas que são refletidos nos
1075 níveis séricos da bioquímica do sangue. A bioquímica sérica abrange uma gama de variáveis
1076 enzimáticas que podem ser mensuradas através do soro sanguíneo, desta forma qualquer
1077 alteração na nutrição e sanidade das aves, os níveis séricos são modificados de acordo com a
1078 influência exercida.

1079 A administração de aditivos equilibradores nas dietas dos animais, visa a redução da
1080 carga microbiana patogênica a fim de reduzir os seus efeitos tóxicos sobre o animal, bem como
1081 aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes. A fosfatase alcalina por auxiliar na
1082 desfosforilação da endotoxina bacteriana, diminui os efeitos tóxicos (Hofman e Solter, 2008).
1083 Como esta enzima foi encontrada em menores proporções nas aves alimentadas com aditivos,
1084 podemos afirmar que as populações de cepas patogênicas foram reduzidas, devido à baixa
1085 concentração da enzima sérica.

1086 As variáveis TGP e GGT são complementares, possibilitando a análise conjunta dos
1087 resultados. Essas variáveis estão relacionadas com o metabolismo e atividade do fígado e
1088 produção biliar onde valores altos indicariam alteração neste órgão. As aves que receberam o
1089 antibiótico bacitracina, apresentou peso de fígado, TGP e GGT maiores quando contrastado
1090 com as que receberam simbiótico. Este efeito pode ter ocorrido devido a resposta e o estímulo
1091 imunológico diferente dentre os tratamentos, já que o fígado é um mediador na resposta
1092 imunológica (Zhang et al., 2020).

1093 Outro fato também que podem ter gerado esta resposta é devido a diferente população
1094 microbiana residente selecionada pelo aditivo, que podem gerar metabolitos distintos entre as
1095 aves do estudo. Uma variável que complementa esta hipótese é a GLOB que é uma proteína
1096 plasmática de alta massa molecular, cuja função é servir de suporte a um anticorpo (Lumeij,
1097 2008), sendo encontrada em menor proporção para as aves que consumiram os aditivos.

1098 Os aditivos por proporcionarem maior integridade dos enterócitos e maiores estímulos
1099 na secreção de enzimas pancreáticas (Khan et al., 2020), proporcionou maiores níveis de ureia
1100 sérica, levantando a hipótese de um melhor aproveitamento da proteína bruta da dieta.

1101 A ureia sérica quando mensurada pelo soro sanguíneo, reflete a proporção de proteína
1102 bruta contida na dieta que foi metabolizada pelo animal. Quando vista em conjunto com a
1103 creatinina sérica podem indicar catabolismo proteico dos músculos e a função renal, já que a
1104 creatinina sérica é um indicador de filtração glomerular no rim (Kholif et al., 2014; Hofman e
1105 Solter, 2008).

1106 As aves do estudo responderam bem aos desafios impostos pela pesquisa. Entretanto, a
1107 pouca diversidade e maturação tardia da microbiota no trato gastrointestinal das aves na fase de
1108 cria, favorece a proliferação de patógenos entéricos (Awad et al., 2016; Khan et al., 2020), desta

1109 forma, uma suplementação de aditivos naturais que contribuam para o povoamento de bactérias
1110 benéficas e exclusão de bactérias patogênicas traz benefícios. Deste modo é importante o uso de
1111 aditivos simbióticos para a fase de cria, em ambientes de desafio sanitário.

1112 **5. CONCLUSÃO**

1113 A utilização do aditivo simbiótico para galinhas poedeiras na fase de cria atingiu seu
1114 propósito em substituir o antibiótico bacitracina de zinco como aditivo.

1115 **6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

- 1116 ABDEL-HACK, M. E. et al. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. **Journal of**
1117 **Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1835–1850, 2020.
- 1118 ABDEL-MONEIM, A. M. E. et al. Effect of in Ovo Inoculation of *Bifidobacterium spp.* on
1119 Growth Performance, Thyroid Activity, Ileum Histomorphometry, and Microbial Enumeration
1120 of Broilers. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 3, p. 873–882, 2019.
- 1121 ABDEL-WARETH, A. A. A. et al. Synbiotic as eco-friendly feed additive in diets of chickens
1122 under hot climatic conditions. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4575–4583, 2019.
- 1123 ABOU-KASSEM, D. E. et al. Growth, carcass characteristics, meat quality, and microbial
1124 aspects of growing quail fed diets enriched with two different types of probiotics (*Bacillus*
1125 *toyonensis* and *Bifidobacterium bifidum*). **Poultry Science**, v. 100, n. 1, p. 84–93, 2021.
- 1126 ADHIKARI, P. et al. Effect of dietary fructooligosaccharide supplementation on internal
1127 organs *Salmonella* colonization, immune response, ileal morphology, and ileal
1128 immunohistochemistry in laying hens challenged with *Salmonella enteritidis*. **Poultry Science**,
1129 v. 97, n. 7, p. 2525–2533, 2018.
- 1130 AFRC, R. F. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, n. 5, p.
1131 365–378, 1989.
- 1132 AKBARYAN, M. et al. A comparison of the effects of resistant starch, fructooligosaccharide,
1133 and zinc bacitracin on cecal short-chain fatty acids, cecal microflora, intestinal morphology,
1134 and antibody titer against Newcastle disease virus in broilers. **Comparative Clinical**
1135 **Pathology**, v. 28, n. 3, p. 661–667, 2019.
- 1136 AL-KHALAIFAH, H. S. Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry.
1137 **Poultry Science**, v. 97, n. 11, p. 3807–3815, 2018.
- 1138 ALAGAWANY, M. et al. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in
1139 poultry nutrition. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 11, p. 10611–
1140 10618, 2018.
- 1141 ALAVI, S. A. N. et al. Effect of prebiotics, probiotics, acidfire, growth promoter antibiotics
1142 and synbiotic on humoral immunity of broiler chickens. **Global Veterinaria**, v. 8, n. 6, p. 612–
1143 617, 2012.
- 1144 ALLOUI, M. N.; SZCZUREK, W.; ŚWIATKIEWICZ, S. The usefulness of prebiotics and
1145 probiotics in modern poultry nutrition: A review. **Annals of Animal Science**, v. 13, n. 1, p. 17–
1146 32, 2013.
- 1147 ANTONIALLI, R. **Efeito de ligantes de receptores semelhantes a Toll na resposta imune**
1148 **induzidas por antígenos direcionados ao DEC205 e DCIR2**. 2013. Dissertação (Mestrado
1149 em Ciências) – Programa Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro, Universidade de São
1150 Paulo, São Paulo.
- 1151 ATABAIGI ELMI, V. et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* and natural antibacterials on
1152 growth performance and *Salmonella* colonization in broiler chickens challenged with
1153 *Salmonella enteritidis*. **Livestock Science**, v. 233, n. January, p. 103948, 2020.

- 1154 AWAD, W. A. et al. Age-related differences in the luminal and mucosa-associated gut
1155 microbiome of broiler chickens and shifts associated with *Campylobacter jejuni* infection.
1156 **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. NOV, p. 1–17, 2016.
- 1157 BABU, U. S. et al. Differential antibacterial response of chicken granulosa cells to invasion by
1158 *Salmonella* serovars. **Poultry Science**, v. 95, n. 6, p. 1370–1379, 2016.
- 1159 BAJAGAI, Y. S. et al. Probiotics in animal nutrition: Production, impact and regulation. **Food
1160 and Agriculture Organization of the United Nations**, p. 108, 2016.
- 1161 BALLOU, A. L. et al. Development of the chick microbiome: How early exposure influences
1162 future microbial diversity. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, n. JAN, p. 1–12, 2016.
- 1163 BARBOSA, T. M. et al. Screening for *Bacillus* Isolates in the Broiler Gastrointestinal Tract.
1164 **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 2, p. 968–978, 2005.
- 1165 BENGMARK, S. Bioecologic control of the gastrointestinal tract: The role of flora and
1166 supplemented probiotics and synbiotics. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 34,
1167 n. 3, p. 413–436, 2005.
- 1168 BILAL, M. et al. Effects of novel probiotic strains of *Bacillus pumilus* and *Bacillus subtilis* on
1169 production, gut health, and immunity of broiler chickens raised under suboptimal conditions.
1170 **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 100871, 2020.
- 1171 BINDELS, L. B. et al. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. **Nature Reviews:
1172 Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 5, p. 303–310, 2015.
- 1173 BORATTO, A. J. et al. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia em frangos de corte
1174 criados em ambiente de conforto, inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira
1175 de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1477–1485, 2004.
- 1176 BOVO, F. et al. Efficacy of beer fermentation residue containing *Saccharomyces cerevisiae*
1177 cells for ameliorating aflatoxicosis in broilers. **Poultry Science**, v. 94, n. 5, p. 934–942, 2015.
- 1178 BUNESOVA, V. et al. Bifidobacteria from the gastrointestinal tract of animals: differences and
1179 similarities. **Beneficial Microbes**, v. 5, n. 4, p. 377–388, 1 dez. 2014.
- 1180 BUTTA, H. et al. Bifidobacterium: An emerging clinically significant metronidazole-resistant
1181 anaerobe of mixed pyogenic infections. **Cureus**, v. 9, n. 4, p. 4–9, 2017.
- 1182 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa
1183 Agropecuária. **Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020**: Proibição em território
1184 nacional de aditivos melhoradores de desempenho que contenham antimicrobianos
1185 classificados como importantes na medicina humana. Brasília, 2020.
- 1186 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa
1187 Agropecuária. **Instrução Normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2015**: Regulamento técnico
1188 sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. Brasília, 2015.
- 1189 CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: A literature survey. **Critical
1190 Reviews in Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 281–370, 2002.
- 1191 Castanon, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in european poultry feeds.
1192 **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2466–2471, 2007.

- 1193 CASTAÑEDA, C. D. et al. In ovo inoculation of an *Enterococcus faecium*-based product to
1194 enhance broiler hatchability, live performance, and intestinal morphology. **Poultry Science**, v.
1195 99, n. 11, p. 6163–6172, 2020.
- 1196 CHENG, G. et al. Antimicrobial drugs in fighting against antimicrobial resistance. **Frontiers**
1197 **in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 1–11, 2016.
- 1198 CHRISTOFOLI, M. et al. Beneficial and harmful intestinal microbiota in poultry farming:
1199 Review. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e43973667, 2020.
- 1200 COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probiotics and immune response. **Ciência Rural**, v. 34, n.
1201 4, p. 1297–1303, 2004.
- 1202 CORRIGAN, A. et al. Phylogenetic and functional alterations in bacterial community
1203 compositions in broiler ceca as a result of mannan oligosaccharide supplementation. **Applied**
1204 **and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 10, p. 3460–3470, 2015.
- 1205 CRISOL-MARTÍNEZ, E. et al. Understanding the mechanisms of zinc bacitracin and
1206 avilamycin on animal production: linking gut microbiota and growth performance in chickens.
1207 **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 11, p. 4547–4559, 2017.
- 1208 DEAN, S. N. et al. *Lactobacillus acidophilus* membrane vesicles as a vehicle of bacteriocin
1209 delivery. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. April, p. 1–14, 2020.
- 1210 DELEU, M.; PAQUOT, M.; NYLANDER, T. Effect of fengycin, a lipopeptide produced by
1211 *Bacillus subtilis*, on model biomembranes. **Biophysical Journal**, v. 94, n. 7, p. 2667–2679,
1212 2008.
- 1213 DIAZ, T. G. et al. Use of live yeast and mannan-oligosaccharides in grain-based diets for cattle:
1214 Ruminant parameters, nutrient digestibility, and inflammatory response. **PLOS ONE**, v. 13, n.
1215 11, p. 1–15, 2018.
- 1216 DIDARI, T. et al. A systematic review of the safety of probiotics. **Expert Opinion on Drug**
1217 **Safety**, v. 13, n. 2, p. 227–239, 2014.
- 1218 EL-MONEIM, A. E. M. E. A. et al. Assessment of in ovo administration of *Bifidobacterium*
1219 *bifidum* and *Bifidobacterium longum* on performance, ileal histomorphometry, blood
1220 hematological, and biochemical parameters of broilers. **Probiotics and Antimicrobial**
1221 **Proteins**, v. 12, n. 2, p. 439–450, 2019.
- 1222 ELGHANDOUR, M. M. Y. et al. *Saccharomyces cerevisiae* as a probiotic feed additive to non
1223 and pseudo-ruminant feeding: a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 3, p.
1224 658–674, 2019.
- 1225 ELSHAGHABEE, F. M. F. et al. *Bacillus* as potential probiotics: Status, concerns, and future
1226 perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. AUG, p. 1–15, 2017.
- 1227 ESTRADA, A.; WILKIE, D. C.; DREW, M. Administration of *Bifidobacterium bifidum* to
1228 chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir.
1229 **Journal of Applied Poultry Research**, v. 10, n. 4, p. 329–334, 2001.
- 1230 FEITOSA, T. J. DE O. et al. Intestinal microbiota of poultry: bibliographic review. **Research,**
1231 **Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e42952779, 2020.

- 1232 FIGUEIRA, S. V. **Microbiota intestinal das aves de produção**. 2013. Seminário (Disciplina
1233 de Seminário) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de
1234 Goiás, Goiânia.
- 1235 FIORE, E.; VAN TYNE, D.; GILMORE, M. S. Pathogenicity of Enterococci. **Microbiology**
1236 **Spectrum**, v. 7, n. 4, p. 189–211, 2019.
- 1237 FORTE, C. et al. Effects of two different probiotics on microflora, morphology, and
1238 morphometry of gut in organic laying hens. **Poultry Science**, v. 95, n. 11, p. 2528–2535, 2016.
- 1239 FORTE, C. et al. Dietary *Lactobacillus acidophilus* positively influences growth performance,
1240 gut morphology, and gut microbiology in rurally reared chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 3,
1241 p. 930–936, 2018.
- 1242 GADDE, U. et al. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed
1243 efficiency in poultry: A review. **Animal Health Research Reviews**, v. 18, n. 1, p. 26–45, 2017.
- 1244 GAO, Z. et al. Study of *Bacillus subtilis* on growth performance, nutrition metabolism and
1245 intestinal microflora of 1 to 42 d broiler chickens. **Animal Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 109–113,
1246 2017.
- 1247 GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The *Enterococcus*: a Model of Adaptability to Its
1248 Environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, p. 1–28, 2019.
- 1249 GAST, R. K. et al. Horizontal transmission and internal organ colonization by *Salmonella*
1250 *Enteritidis* and *Salmonella* *Kentucky* in experimentally infected laying hens in indoor cage-free
1251 housing. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 6071–6074, 2020.
- 1252 GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota:
1253 Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, 1995.
- 1254 GOGINENI, V. K. et al. Probiotics: History and Evolution. **Journal of Ancient Diseases &**
1255 **Preventive Remedies**, v. 1, n. 2, p. 1–7, 2013.
- 1256 GOLDSTEIN, E. J. C.; TYRRELL, K. L.; CITRON, D. M. *Lactobacillus* species: Taxonomic
1257 complexity and controversial susceptibilities. **Clinical Infectious Diseases**, v. 60, n. 2, p. 98–
1258 107, 2015.
- 1259 GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*:
1260 biological, biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as
1261 probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 4–5, p. 139–157, 1999.
- 1262 GONZALES, E.; MELLO, H. H. D. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de
1263 crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v. 13, p. 48–53, 2012.
- 1264 GRANT, A.; GAY, C. G.; LILLEHOJ, H. S. *Bacillus* spp. as direct-fed microbial antibiotic
1265 alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. **Avian Pathology**, v. 47,
1266 n. 4, p. 339–351, 2018.
- 1267 HANCHI, H. et al. The genus *Enterococcus*: Between probiotic potential and safety concerns—
1268 an update. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. AUG, p. 1–16, 2018.
- 1269 HANCOCK, R. E. W.; CHAPPLE, D. S. Peptide Antibiotics. **Antimicrobial Agents and**
1270 **Chemotherapy**, v. 43, n. 6, p. 1317–1323, 1999.

- 1271 HEGARTY, J. W. et al. Lack of heterogeneity in bacteriocin production across a selection of
1272 commercial probiotic products. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 9, n. 4, p. 459–465,
1273 2017.
- 1274 HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In:
1275 Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L., Eds., **Clinical Biochemistry of Domestic**
1276 **Animals**. San Diego: Academic Press, 2008. p. 351–378.
- 1277 IANNITTI, T.; PALMIERI, B. Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice.
1278 **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 6, p. 701–725, 2010.
- 1279 JACQUIER, V. et al. *Bacillus subtilis* 29784 induces a shift in broiler gut microbiome toward
1280 butyrate-producing bacteria and improves intestinal histomorphology and animal performance.
1281 **Poultry Science**, v. 98, n. 6, p. 2548–2554, 2019.
- 1282 JANCZAK, A. M.; RIBER, A. B. Review of rearing-related factors affecting the welfare of
1283 laying hens. **Poultry Science**, v. 94, n. 7, p. 1454–1469, 2015.
- 1284 JHA, R. et al. Probiotics (Direct-fed microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient
1285 utilization, growth and laying performance, and gut health: A systematic review. **Animals**, v.
1286 10, n. 10, p. 1-19, 2020.
- 1287 KELLEY, T. R. et al. Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. **Poultry Science**, v. 77,
1288 n. 2, p. 243–247, 1998.
- 1289 KHAN, H.; FLINT, S.; YU, P.-L. Enterococci in food preservation. **International Journal of**
1290 **Food Microbiology**, v. 141, n. 1–2, p. 1–10, 2010.
- 1291 KHAN, S. et al. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and
1292 probiotics to enhance gut health and food safety. **Applied and Environmental Microbiology**,
1293 v. 86, n. 13, p. 1–36, 2020.
- 1294 KHOLIF, A. E. et al. Nutrient digestibility, ruminal fermentation activities, serum parameters
1295 and milk production and composition of lactating goats fed diets containing rice straw treated
1296 with *Pleurotus ostreatus*. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 3, p. 357–
1297 364, 2014.
- 1298 KLAENHAMMER, T. R.; KULLEN, M. J. Selection and design of probiotics. **International**
1299 **Journal of Food Microbiology**, v. 50, n. 1–2, p. 45–57, 1999.
- 1300 KRIDTAYOPAS, C. et al. Effect of prebiotic and synbiotic supplementation in diet on growth
1301 performance, small intestinal morphology, stress, and bacterial population under high stocking
1302 density condition of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4595–4605, 2019.
- 1303 KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; SANTIN, E. Probiotics on poultry production. **Ciência**
1304 **Rural**, v. 44, n. 8, p. 1457–1465, 2014.
- 1305 LAN, R. X.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Effects of *Enterococcus faecium* SLB 120 on growth
1306 performance, blood parameters, relative organ weight, breast muscle meat quality, excreta
1307 microbiota shedding, and noxious gas emission in broilers. **Poultry Science**, v. 96, n. 9, p.
1308 3246–3253, 2017.
- 1309 LEAHY, S. C. et al. Getting better with bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v.
1310 98, n. 6, p. 1303–1315, 2005.

- 1311 LEBRETON, F.; WILLEMS, R. J. L.; GILMORE, M. S. Enterococcus diversity, origins in
1312 nature, and gut colonization. **Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug**
1313 **Resistant Infection**, p. 1–59, 2014.
- 1314 LEE, H.; KIM, H. Y. Lantibiotics, class I Bacteriocins from the genus Bacillus. **Journal of**
1315 **Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 229–235, 2011.
- 1316 LEE, J.-H.; O’SULLIVAN, D. J. Genomic insights into bifidobacteria. **Microbiology and**
1317 **Molecular Biology Reviews**, v. 74, n. 3, p. 378–416, 2010.
- 1318 LEMOS, M. J. DE et al. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de
1319 corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 0, p. 1–7, 2016.
- 1320 LI, Z. et al. Effects of Lactobacillus acidophilus on the growth performance and intestinal health
1321 of broilers challenged with Clostridium perfringens. **Journal of Animal Science and**
1322 **Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 25, 2018.
- 1323 LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth-promoting factors produced by
1324 microorganisms. **Science**, v. 147, n. 3659, p. 747–748, 1965.
- 1325 LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L.,
1326 Eds., **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2008. p. 839–
1327 872.
- 1328 LUOMA, A. et al. Effect of synbiotic supplementation on layer production and cecal
1329 Salmonella load during a Salmonella challenge. **Poultry Science**, v. 96, n. 12, p. 4208–4216,
1330 2017.
- 1331 MACARI, M., LUNEDO, R., PEDROSO, A. Microbiota intestinal de aves. In: Macari, M.,
1332 Mendes, A. A., Menten, J. F. M., Nääs, I. A., **Produção de Frangos de Corte**. São Paulo:
1333 FACTA, 2014. p. 565.
- 1334 MACEDO, L. L.; VIMERCATI, W. C.; ARAÚJO, C. DA S. Fruto-oligossacarídeos: aspectos
1335 nutricionais, tecnológicos e sensoriais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. 1–9,
1336 2020.
- 1337 MAGET-DANA, R.; PEYPOUX, F. Iturins, a special class of pore-forming lipopeptides:
1338 biological and physicochemical properties. **Toxicology**, v. 87, n. 1–3, p. 151–174, 1994.
- 1339 MANNU, L. et al. Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic
1340 resistance between Enterococcus faecium strains of dairy, animal and clinical origin.
1341 **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2–3, p. 291–304, 2003.
- 1342 MARCHEWKA, J. et al. Associations between welfare and ranging profile in free-range
1343 commercial and heritage meat-purpose chickens (Gallus gallus domesticus). **Poultry Science**,
1344 v. 99, n. 9, p. 4141–4152, 2020.
- 1345 MARKOWIAK, P.; ŚLIŻEWSKA, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in
1346 animal nutrition. **Gut Pathogens**, v. 10, n. 1, p. 21, 2018.
- 1347 MATUR, E. et al. The effects of Saccharomyces cerevisiae extract on the weight of some
1348 organs, liver, and pancreatic digestive enzyme activity in breeder hens fed diets contaminated
1349 with aflatoxins. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2213–2220, 2010.

- 1350 MENCONI, A. et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of
1351 Salmonella enterica serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and Turkey poult. **Poultry**
1352 **Science**, v. 90, n. 3, p. 561–565, 2011.
- 1353 MESQUITA, A. R. C. DE et al. Metabolism and physiology of Lactobacilli: a review. **Journal**
1354 **of Environmental Analysis and Progress**, v. 2, n. 2, p. 125–136, 2017.
- 1355 METCHNIKOFF, E. **The prolongation of life: Optimistic studies**. Nova York e Londres: The
1356 Knickerbocker Press, 1908. p. 343.
- 1357 MIRANDA, J. M. et al. Evolution of resistance in poultry intestinal Escherichia coli during
1358 three commonly used antimicrobial therapeutic treatments in poultry. **Poultry Science**, v. 87,
1359 n. 8, p. 1643–1648, 2008.
- 1360 MOHAMMED, A. A. et al. Effect of a synbiotic supplement on cecal microbial ecology,
1361 antioxidant status, and immune response of broiler chickens reared under heat stress. **Poultry**
1362 **Science**, v. 98, n. 10, p. 4408–4415, 2019.
- 1363 MORALES-LOPEZ, R.; BRUFAU, J. Immune-modulatory effects of dietary Saccharomyces
1364 cerevisiae cell wall in broiler chickens inoculated with Escherichia coli lipopolysaccharide.
1365 **British Poultry Science**, v. 54, n. 2, p. 247–251, 2013.
- 1366 MUNOZ, J. A. et al. Phosphorus retention in corn, spray dried plasma protein, soybean meal,
1367 meat and bone meal, and canola meal using a precision-fed rooster assay. **Poultry Science**, v.
1368 97, n. 12, p. 4324–4329, 2018.
- 1369 MURAROLLI, V. D. A. **Efeito de prebiótico , probiótico e simbiótico sobre o desempenho**
1370 **, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. Dissertação (Mestrado em
1371 Medicina Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal,
1372 Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 1373 O'DONNELL, J. A.; GELONE, S. P.; SAFDAR, A. Topical Antibacterials. In: Mandell,
1374 Douglas, and Bennett's, **Principles and Practice of Infectious Diseases**. Elsevier Inc., 2014.
1375 v. 1, p. 452–462.
- 1376 OCEJO, M.; OPORTO, B.; HURTADO, A. 16S rRNA amplicon sequencing characterization
1377 of caecal microbiome composition of broilers and free-range slow-growing chickens
1378 throughout their productive lifespan. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 2506, 2019.
- 1379 OZOGUL, F.; HAMED, I. **Lactic Acid Bacteria: Lactobacillus spp.: Lactobacillus**
1380 **acidophilus**. Elsevier, 2016. p. 1-10.
- 1381 PALMA, M. L. et al. Probiotic Saccharomyces cerevisiae strains as biotherapeutic tools: is
1382 there room for improvement? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 16, p. 6563–
1383 6570, 2015.
- 1384 PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut**
1385 **Microbes**, v. 5, n. 1, p. 108–119, 2014.
- 1386 PARK, S. H. et al. Pasture flock chicken cecal microbiome responses to prebiotics and plum
1387 fiber feed amendments. **Poultry Science**, v. 96, n. 6, p. 1820–1830, 2017.
- 1388 PAVLI, V.; KMETEC, V. Pathways of chemical degradation of polypeptide antibiotic
1389 bacitracin. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 11, p. 2160–2167, 2006.

- 1390 PENDER, C. M. et al. In ovo supplementation of probiotics and its effects on performance and
1391 immune-related gene expression in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 96, n. 5, p. 1052–1062,
1392 2016.
- 1393 PENHA FILHO, R. A. C. et al. Immunomodulatory activity and control of Salmonella
1394 Enteritidis colonization in the intestinal tract of chickens by Lactobacillus based probiotic.
1395 **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 167, n. 1–2, p. 64–69, 2015.
- 1396 PICARD, C. et al. Review article: bifidobacteria as probiotic agents - physiological effects and
1397 clinical benefits. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 22, n. 6, p. 495–512, 2005.
- 1398 POURABEDIN, M.; ZHAO, X. Prebiotics and gut microbiota in chickens. **FEMS**
1399 **Microbiology Letters**, v. 362, n. 15, p. 122, 2015.
- 1400 PUPPALA, K. R. et al. Dephytinizing and probiotic potentials of Saccharomyces cerevisiae
1401 (NCIM 3662) strain for amelioration of nutritional quality of functional foods. **Probiotics and**
1402 **Antimicrobial Proteins**, v. 11, n. 2, p. 604–617, 2018.
- 1403 RAGHUWANSHI, S. et al. Indian perspective for probiotics : A review. **Indian J Dairy Sci**,
1404 v. 68, n. 3, p. 195–205, 2015.
- 1405 RAIZEL, R. et al. Effects of probiotics, prebiotics and synbiotics consumption on the human
1406 organism organism. **Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66–74, 2011.
- 1407 REIS, M. DE P. et al. Levels of zinc bacitracin used to improve the performance of broilers.
1408 **Ciência Rural**, v. 44, n. 6, p. 1093–1099, 2014.
- 1409 REIS, T. L.; VIEITES, F. M. Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de
1410 frangos de corte e galinhas poedeiras. **Ciência Animal**, v. 29, n. 3, p. 133–147, 2019.
- 1411 RICKE, S. C. Potential of fructooligosaccharide prebiotics in alternative and nonconventional
1412 poultry production systems. **Poultry Science**, v. 94, n. 6, p. 1411–1418, 2015.
- 1413 RICKE, S. C. et al. Prebiotics and the poultry gastrointestinal tract microbiome. **Poultry**
1414 **Science**, v. 99, n. 2, p. 670–677, 2020.
- 1415 ROMERO-LUNA, H. E. et al. Evaluation of the probiotic potential of Saccharomyces
1416 cerevisiae strain (C41) isolated from tibicos by in vitro studies. **Probiotics and Antimicrobial**
1417 **Proteins**, v. 11, n. 3, p. 794–800, 2018.
- 1418 ROSELLI, M. et al. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or
1419 organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in
1420 vivo results. **Animal Research**, v. 54, n. 3, p. 203–218, 2005.
- 1421 Rostagno, H.S. Exigências Nutricionais de Aves de Reposição Leves (%). In: Rostagno, H.S.,
1422 L.F.T. Albino., M.I. Hannas., J.L. Donzele., N.K. Sakomura., F.G. Perazzo., A. Saraiva., M.L.
1423 Teixeira., P.B. Rodrigues., R.F. Oliveira., S.L.T. Barreto., C.O. Brito, **Tabelas Brasileiras**
1424 **para aves e suínos**. Viçosa: UFV, 2017. p. 308.
- 1425 SALMINEN, S. et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function.
1426 **British Journal of Nutrition**, v. 80, n. 1, p. 147–171, 1998.
- 1427 Sakomura, N.K., H.S. Rostagno. 2007. Planejamento dos experimentos com monogástricos:
1428 correção da conversão alimentar pela mortalidade. In: Sakomura, N.K., H.S. Rostagno,

- 1429 **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007. p. 30.
- 1430 SANTOS, J. B. DOS. **Seleção de estirpes de *Bacillus* spp. tóxicas a *Meloidogyne* spp. e**
1431 **promotoras de crescimento vegetal**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa
1432 de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Brasília, Distrito Federal.
- 1433 SCHMITT, J. A. D. **Avaliação do perfil probiótico de cepas de *Lactobacillus acidophilus***
1434 **destinados a aplicações farmacêuticas e alimentícias**. 2014. Dissertação (Mestrado em
1435 Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
1436 Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.
- 1437 SHAH, N.; RAJIV, D. Antimicrobial lactic substances including bacteriocins produced by acid
1438 bacteria. **Bioscience Microflora**, v. 21, n. 4, p. 217–223, 2002.
- 1439 SHANG, Y. et al. Effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) supplementation on ileal
1440 microbiota in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 10, p. 3622–3634, 2018.
- 1441 SIDJABAT, H. E.; BLACKALL, L. One health probiotics. **Microbiology Australia**, v. 41, n.
1442 2, p. 56, 2020.
- 1443 SILVA, E. N. DA; FILHO, R. L. A. Probióticos E Prebióticos Na Avicultura. **Simpósio de**
1444 **Sanidade Avícola**, v. 2, p. 45–55, 2000.
- 1445 SILVA, J. D. T. et al. Simbiótico e extratos naturais na dieta de codornas japonesas na fase de
1446 postura. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 1–7, 2012.
- 1447 SOCCOL, C. R. et al. The potential of probiotics: A review. **Food Technology and**
1448 **Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413–434, 2010.
- 1449 SUGIHARTO, S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry.
1450 **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 15, n. 2, p. 99–111, 2016.
- 1451 SUMI, C. D. et al. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: A new era for antibiotics.
1452 **Canadian Journal of Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 93–103, 2015.
- 1453 SWANSON, K. S. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics
1454 (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews**
1455 **Gastroenterology & Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 687–701, 2020.
- 1456 ŚWIĄTKIEWICZ, S.; ARCZEWSKA-WŁOSEK, A.; JÓZEFIAK, D. Immunomodulatory
1457 efficacy of yeast cell products in poultry: a current review. **World's Poultry Science Journal**,
1458 v. 70, n. 1, p. 57–68, 2014.
- 1459 TABASCO, R. et al. *Lactobacillus acidophilus* La-5 increases lactacin B production when it
1460 senses live target bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 132, n. 2–3, p.
1461 109–116, 2009.
- 1462 TANNOCK, G. W. et al. Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a
1463 probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. **Applied and Environmental**
1464 **Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2578–2588, 2000.
- 1465 TARUN, M.; MISRA, A. K. Probiotics and human health: Synoptic review. **Aspectos**
1466 **Generales De La Planificación Tributaria En Venezuela**, v. 9, n. 8, p. 1778–1796, 2009.

- 1467 TENG, P.-Y.; KIM, W. K. Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers.
1468 **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. OCT, p. 1–18, 2018.
- 1469 THEMA, K. et al. Evaluating Alternatives to Zinc-Bacitracin Antibiotic Growth Promoter in
1470 Broilers: Physiological and Meat Quality Responses. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1160, 2019.
- 1471 TIWARI, G. et al. Promising future of probiotics for human health: Current scenario.
1472 **Chronicles of Young Scientists**, v. 3, n. 1, p. 17, 2012.
- 1473 TOLEDO, G. S. P. DE et al. Performance of broilers fed diets added of antibiotic and
1474 phytoterapic isolated or associated. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1760–1764, 2007.
- 1475 VAN GOOR, A. et al. Microbiome and biological blood marker changes in hens at different
1476 laying stages in conventional and cage free housings. **Poultry Science**, v. 99, n. 5, p. 2362–
1477 2374, 2020.
- 1478 VASCONCELOS, F. et al. Organic acids, essential oils and symbiotic in semi-heavy laying
1479 hen diets: productive performance and economic analysis. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10,
1480 n. 3, p. 194–200, 2016.
- 1481 WANG, J. et al. Differential analysis of gut microbiota and the effect of dietary *Enterococcus*
1482 *faecium* supplementation in broiler breeders with high or low laying performance. **Poultry**
1483 **Science**, v. 100, n. 2, p. 1109–1119, 2021.
- 1484 World Health Organization. **The medical impact of antimicrobial use in food animals.**
1485 Berlin: WHO, 1997.
- 1486 WU, X. Z.; WEN, Z. G.; HUA, J. L. Effects of dietary inclusion of *Lactobacillus* and inulin on
1487 growth performance, gut microbiota, nutrient utilization, and immune parameters in broilers.
1488 **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4656–4663, 2019.
- 1489 YADAV, S.; JHA, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on
1490 nutrient utilization, performance, and health of poultry. **Journal of Animal Science and**
1491 **Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 2, 2019.
- 1492 ZANU, H. K. et al. Influence of meat and bone meal, phytase, and antibiotics on broiler
1493 chickens challenged with subclinical necrotic enteritis: 2. intestinal permeability, organ
1494 weights, hematology, intestinal morphology, and jejunal gene expression. **Poultry Science**, v.
1495 99, n. 5, p. 2581–2594, 2020.
- 1496 ZHANG, C. et al. Effects of *Glycyrrhiza* polysaccharide in diet on growth performance, serum
1497 antioxidant capacity, and biochemistry of broilers. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 100927,
1498 2020.
- 1499 ZHANG, S. et al. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* promotes growth performance
1500 of broilers by altering the dominant microbial community. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p.
1501 100935, 2021.
- 1502 ZHAO, X.; KUIPERS, O. P. Identification and classification of known and putative
1503 antimicrobial compounds produced by a wide variety of *Bacillales* species. **BMC Genomics**,
1504 v. 17, n. 1, p. 882, 2016.
- 1505 ZHENG, A. et al. Probiotic (*Enterococcus faecium*) induced responses of the hepatic proteome
1506 improves metabolic efficiency of broiler chickens (*Gallus gallus*). **BMC Genomics**, v. 17, n. 1,

1507 p. 89, 2016.

1508 ZHENG, J. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera,
1509 emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae
1510 and Leuconostocaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary**
1511 **Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2020.