

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

**WEBERT AURINO DA SILVA**

**GALINHAS POEDEIRAS ALIMENTADAS COM SIMBIÓTICO  
VERSUS BACITRACINA DE ZINCO: HEMATO-BIOQUÍMICA,  
AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS, MORFOLOGIA INTESTINAL E  
ISOLAMENTO DE *Clostridium perfringens***

**RECIFE**

**2022**

**WEBERT AURINO DA SILVA**

**GALINHAS POEDEIRAS ALIMENTADAS COM SIMBIÓTICO  
VERSUS BACITRACINA DE ZINCO: HEMATO-BIOQUÍMICA,  
AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS, MORFOLOGIA INTESTINAL E  
ISOLAMENTO DE *Clostridium perfringens***

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(a): Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Coorientador(es): Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.Lilian Francisco Arantes de Souza

**RECIFE**

**2022**

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)

- 
- W376g Silva, Webert  
GALINHAS POEDEIRAS ALIMENTADAS COM SIMBIÓTICO VERSUS  
BACITRACINA DE ZINCO: HEMATO-BIOQUÍMICA, AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS,  
MORFOLOGIA INTESTINAL E ISOLAMENTO DE  
Clostridium perfringens / Webert Silva. - 2022.  
75 f. : il.
- Orientador: Carlos Boa-Viagem Rabello.  
Coorientador: . Julio Cezar dos Santos Nascimento. Lilian Francisco  
Arantes de Souza. Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação  
em Zootecnia, Recife, 2022.
1. aditivo. 2. avicultura. 3. probiótico. 4. prebiótico. 5. Clostridium perfringens. I. Rabello, Carlos Boa-  
Viagem, orient.  
II. Nascimento, .Julio Cezar dos Santos. Souza. Lilian Francisco Arantes de, coorient. III. Título



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

**GALINHAS POEDEIRAS ALIMENTADAS COM SIMBIÓTICO  
VERSUS BACITRACINA DE ZINCO: HEMATO-BIOQUÍMICA,  
AVALIAÇÃO DE ÓRGÃOS, MORFOLOGIA INTESTINAL E  
ISOLAMENTO DE *Clostridium perfringens***

Dissertação elaborada por  
WEBERT AURINO DA SILVA

Aprovado em 25/02/2022

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Profa. Dra. Mércia Rodrigues Barros  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dra. Miriam Nogueira Teixeira  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

## DEDICATÓRIA

Dedico a minha família, em especial a minha tia Maria Angelina (In Memoriam) por acreditar em mim antes mesmo que eu pudesse começar a sonhar, e a minha mãe por enxergar cada conquista minha sempre como sendo uma conquista dela.

## AGRADECIMENTOS

Esse trabalho se resume a gratidão, do início até o presente momento.

Agradeço a Deus por me conhecer e permitir que eu realizasse uns dos meus sonhos e sempre pondo em meus caminhos pessoas que me ajudassem a realizar esse trabalho, por sempre me manter forte e persistente.

Agradeço a minha família, em especial a minha mãe Josefa, minha vó Severina, David, Raissa, Esther (Minha Pequena), Helter e Mike e Xande, por serem sinônimo de amor, por serem a razão dos meus sonhos existirem e por serem o bem mais precioso que eu tenho, por serem a minha a minha família!

Sempre a cada conquista minha nunca esquecerei de agradecer a minha tia Maria (In memoriam) que nunca deixou de ver potencial em mim. Tia eu sei que a senhora nunca vai ler isso, mas sua presença e gratidão serão eternas na minha vida e eu preciso mostrar isso pra qualquer pessoa que venha ler esse trabalho um dia, que sempre serei grato por tudo que a senhora me proporcionou.

Ao Departamento de Zootecnia e a Universidade Federal Rural de Pernambuco, por me acolher desde 2014.2, sendo a minha segunda casa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

A empresa Nutri+ pelo financiamento do projeto.

A empresa Bioclin pela doação dos kits para realização da bioquímica sérica

Ao LFDA-PE pela doação da cepa controle de *Clostridium perfringens*

Ao Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello, pela orientação, pela confiança, pela paciência, por servir como exemplo de pesquisador.

Agradeço ao meu co-orientador, o Prof. Dr. Júlio César dos Santos Nascimento por ter feito essa conexão com o professor Carlos, por servir como exemplo de docência.

A Prof. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza, mesmo sendo uma nova docente da universidade me ensinou tantas coisas, principalmente a ser paciente, respeitar minha saúde

mental e física, eu agradeço profundamente por todas as conversas, ensinamentos, confiança e oportunidade de aprendizado.

Agradeço aos professores doutores, Mércia Rodrigues Barros, Miriam Nogueira Teixeira e Valdemiro Amaro Da Silva Junior pela parceria com seus respectivos laboratórios, pela paciência, cordialidade e o tempo cedido.

Agradeço ao CENAPESQ e a sua equipe por ceder espaço para realização das análises histológicas.

Agradeço ao grupo de Avicultura, em especial a minha parceira de experimento Daniela, foram 5 meses de domingo a domingo nesse experimento, obrigado pelos sucos de manga, pelas jujubas, obrigado pelos puxões de orelha com o olhar, obrigado por ter encarado isso comigo, aprendi muito e amadureci muito com você. E agradeço conjuntamente a Apolônio, Dayane, Evann e Rodrigo, que nos ajudaram e tornaram o experimento leve a cada descontração, a cada conversa, vocês foram primordiais para esse trabalho.

Agradeço a Saruanna, por ter tido paciência pra ensinar mais sobre esse mundo mágico que é a microbiologia, por ter virado uma amiga, ouvir minhas loucuras, pelas risadas e conversas descontraídas e sérias sobre PCR, por aceitar e apoiar as minhas ideias e sempre quando eu dizia que era louco, sempre dizer, “Que nada, você é pesquisador”.

A Larissa, minha parceira e amiga de mestrado, juntos desde 2014.2, eu sempre digo pra ela que ela sempre vai ser uma inspiração pra mim, então ocupar mesmo ambiente que Larissa, poder ser amigo dela e enfrentar esses 2 anos, após 4 anos de graduação, sempre se apoiando, chorando e rindo junto foi incrível! (Que venham mais 4 anos!)

Agradeço a todos meus amigos, me recuso fazer uma lista de todos, pois vocês sabem o quanto foram e são importantes pra mim, seja amigo do ensino fundamental, amigo de infância e amigos que eu fiz na UFRPE a amigos que eu nunca vi pessoalmente, cada conversa, conselho, risada, até mesmo xingamento serviram como apoio emocional.

E por fim agradeço a todos profissionais de saúde que se empenharam a criar vacinas para enfrentar o COVID-19, que hoje seja o motivo de ter tantos para agradecer, e que hoje a conclusão desse trabalho se dê a vocês.

## RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da substituição da bacitracina de zinco por simbiótico a partir das fases de cria, recria e produção sobre os parâmetros hematológicos e bioquímicos, desenvolvimento de órgãos e contagem e resistência a antibióticos de *Clostridium perfringens* isolados do ceco de poedeiras em fase final de postura. Um experimento foi conduzido com galinhas poedeiras de 70 a 90 semanas de idade, em um delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos, com seis repetições, sendo três repetições contendo 5 aves, e três repetições contendo 6 aves, totalizando 198 poedeiras. Os tratamentos foram constituídos de quatro dietas experimentais, sendo duas dietas base, sendo a primeira composta por milho e farelo de soja (RMS) e a segunda composta por milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos - sem aditivos (FCO), e outras duas dietas com inclusão de aditivos à dieta FCO, com 0,05% de bacitracina de zinco (BAC) e com 0,1% de aditivo simbiótico, sendo essa última fornecida a três grupos de aves, um com aves que já vinha recebendo o simbiótico desde fase de cria, ou seja desde um dia de idade (SIMC), outro que já vinha consumindo desde a recria, ou seja, a partir de 6 semanas de idade (SIMR) e outro que iniciaram o consumo do simbiótico a partir de 17 semanas de idade, início da produção (SIMP). Às 89 e 90 semanas de idade foram coletadas amostras de sangue para realizar as análises de hematologia e de bioquímica sérica. No fim da 90ª semana as aves foram eutanasiadas uma ave por repetição para realizar a mensuração de peso, comprimento dos órgãos e pH do conteúdo luminal e contagem e resistência de *C. perfringens* no conteúdo cecal. Frações do intestino delgado foram usados para avaliar a histomorfometria. As variáveis foram analisadas pelo PROC GLM do programa SAS OnDemand sendo as médias comparadas pelo teste de Contraste Ortogonais ( $P \leq 0,05$ ). Os contrastes consistiram C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMC; C4: BAC vs SIMR e C5: BAC vs SIMP. Para o C1 houve diferença significativa para ácido úrico (URI) e contagem de *C. perfringens*, onde o tratamento FCO apresentou menor concentração de URI e maior contagem de *C. perfringens*. No C2, houve diferença para as variáveis trombócitos (TROMB), proteínas totais (PT), aspartato aminotransferase (AST), lactado desidrogenase (LDH), fósforo (FOS), colesterol (COL) e comprimento de ceco (CEC), onde o BAC apresentou maiores concentrações de enzimas hepáticas, FOS e COL e menor número de TROMB e menor tamanho de CEC. No C3 houve diferença para eosinófilos (EOS), o tratamento SIMC obteve uma maior média, as enzimas hepáticas e FOS tiveram menor concentração no SIMC e maior concentração de proteínas de alta densidade (HDL) e uma menor contagem *C. perfringens* no mesmo tratamento. No C4, obteve-se diferenças significativas semelhantes ao C3, com exceção da inclusão de diferença nos linfócitos (LIN), LDH, peso relativo do fígado e pH de papo, onde o SIMR apresentou maior média de LIN, menor concentração de LDH, menor proporção de fígado e pH de papo mais ácido comparado com o BAC. O contraste 5 apresentou mesmo comportamento para enzimas hepáticas, fosforo e HDL do C3, o mesmo para pH de papo e proporção do FIG no C4 e maior pH de conteúdo cecal do tratamento SIMP em relação ao BAC. O simbiótico melhorou a histomorfometria (área e altura de vilosidades) do jejuno, duodeno e íleo, se comparado aos outros tratamentos. E aumentou a susceptibilidade dos antibióticos ao *C. perfringens* isolados. Conclui-se que o simbiótico se destaca como um bom substituto à bacitracina de zinco, pois proporciona melhor estado hemato-bioquímico, saúde dos órgãos, melhora as condições histomorfométricas do intestino delgado e reduz a colonização de *Clostridium perfringens* e sua resistência a diversos antibióticos. E considerando o conjunto de dados obtidos, a fase de recria seria o melhor momento para inserção do simbiótico para manter as poedeiras saudáveis até as 90 semanas de idade.

**Palavras-chaves:** prebiótico, probiótico, saúde intestinal, microbiota



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of replacing zinc bacitracin with a symbiotic on starting in the rearing, growing and production phases on hematological and biochemical parameters, organ development and *Clostridium perfringens* antibiogram and count in the cecum of layers hens in the late phase. An experiment was conducted with laying hens, 70 to 90 weeks of age, in an entirely randomized design, composed of six treatments, with six repetitions, three repetitions containing 5 birds, and three repetitions containing 6 birds, totaling 198 birds. The treatments consisted of four experimental diets, two base diets, the first composed of corn and soybean meal (RMS) and the second composed of corn, soybean meal and meat and bone meal - without additives (FCO), and two other diets with inclusion of additives to the FCO diet, with 0.05% zinc bacitracin (BAC) and 0.1% of symbiotic additive. The latter was fed to three groups of birds, one with birds that had already been receiving the symbiotic since the rearing phase, i.e., since one day of age (SIMC), another that had already been consuming it since rearing, i.e., starting at 6 weeks of age (SIMR), and another that initiated the consumption of the symbiotic at 17 weeks of age, the beginning of production (SIMP). At 89 and 90 weeks of age, blood samples were collected to perform hematology and serum biochemistry analyses. At the end of the 90th week the birds were euthanized one bird per replicate to measure weight, organ length, and pH of the luminal contents and count and resistance of *C. perfringens* in the cecal contents. Segments of the small intestine were used to evaluate histomorphometry (duodenum, jejunum and ileum). Variables were analyzed by PROC GLM of the SAS OnDemand program and means were compared by the Orthogonal Contrast test ( $P \leq 0.05$ ). The contrasts consisted of C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMC; C4: BAC vs SIMR; C5: BAC vs SIMP. For C1 there was significant difference for uric acid (URI) and *C. perfringens* count, where FCO treatment showed lower URI concentration and higher *C. perfringens* count. In C2 there was difference for the variables thrombocytes (TROMB), total proteins (PT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), phosphorus (FOS), cholesterol (COL) and caecum length (CEC), where BAC showed higher concentrations of liver enzymes, FOS and COL and lower number of TROMB and smaller size of CEC. In C3 there was a difference for eosinophils (EOS), SIMC treatment obtained a higher mean, liver enzymes activity and FOS had lower concentration in SIMC and higher concentration of high density proteins (HDL) and a lower *C. perfringens* count in the same treatment. In C4 it obtained significant differences similar to C3, except for the inclusion of difference in lymphocytes (LIN), LDH, liver relative weight and pap pH, where SIMR had higher mean LIN, lower LDH concentration, lower liver proportion and more acidic pap pH compared to BAC. Contrast 5 showed the same behavior for liver enzymes, phosphorus and HDL in C3, the same for pap pH and proportion of FIG in C4 and higher caecal content pH of SIMP treatment compared to BAC. The symbiotic improved the histomorphometry (villus area and height) of the jejunum, duodenum and ileum compared to the other treatments. And it increased the susceptibility of antibiotics to *C. perfringens* isolates. It is concluded that the symbiotic stands out as a good substitute for zinc bacitracin, as it provides better hemato-biochemical status, organ health, improves histomorphometric conditions of the small intestine and reduces *Clostridium perfringens* colonization and its resistance to various antibiotics. Considering all the data obtained, the rearing phase would be the best time to introduce the symbiotic to maintain healthy layers up to 90 weeks of age.

**Keywords:** prebiotic, probiotic, gut health, microbiota

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> A composição de microrganismos que predominam e a variação da diversidade do microbiota do TGI em diferentes segmentos das aves. ....	17
<b>Figura 2.</b> Ação do prebiótico. ....	22
<b>Figura 3.</b> Estrutura da parede celular de uma levedura. ....	24
<b>Figura 4.</b> Ação dos probióticos. ....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos tipos de toxinas produzidas por <i>Clostridium perfringens</i> .....	27
Tabela 2. Composição das dietas experimentais .....	31
<b>Tabela 3.</b> Valores médios de hemácias (HEMA), hemoglobinas (HEMO), hematócrito (HEMT), volume corpuscular médio (VCM), Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), proteínas plasmáticas totais (PPT), das aves de acordo com os tratamentos. ....	36
<b>Tabela 4.</b> Valores médios de leucócitos (LEU), heterófilos (HET), linfócitos (LIN), monócitos (MON), eosinófilos (EOS), trombócitos (TROMB), das aves de acordo com os tratamentos .....	37
<b>Tabela 5.</b> Valores médios de Ácido Úrico (URI), Proteínas Totais (PT), Creatina quinase (CK), Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Lactato Desidrogenase (LDH) Fósforo (FOS) sanguíneos das galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos .....	38
<b>Tabela 6.</b> Valores médios de Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL) Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL), Triglicérides (TRI), Colesterol (COL) sanguíneo das galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos.....	39
<b>Tabela 7.</b> Valores médios de peso relativo (%) de baço (BÇO), ceco (CEC), coração (COR), fígado (FIG), intestino (INT), oviduto (OVI) e pâncreas (PAN), das galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos .....	40
<b>Tabela 8.</b> Valores médios do comprimento de ceco (CEC), intestino delgado (INT) e oviduto (OVI) de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos.....	40
<b>Tabela 9.</b> Médias de pH do papo (PAP), proventrículo (PRO), moela (MOE), duodeno (DUO), jejuno (JEJ), íleo (ILE) e ceco (CEC), de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos .....	41
<b>Tabela 10.</b> Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV), profundidade de criptas (PROFC), relação vilo:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do duodeno de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos.....	42
<b>Tabela 11.</b> Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV), profundidade de criptas (PROFC), relação vilo:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do jejuno de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos.....	43
<b>Tabela 12.</b> Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV), profundidade de criptas (PROFC), relação vilo:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do íleo de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos.....	44
<b>Tabela 13.</b> Médias das contagens de <i>Clostridium perfringens</i> do conteúdo cecal de aves poedeiras de acordo com os tratamentos .....	45
<b>Tabela 14.</b> Perfil de susceptibilidade de <i>Clostridium perfringens</i> isolados de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos .....	46

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

% – Porcentagem

°C – Graus Celsius

µm<sup>2</sup> – micrometros quadrados

AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta

ALT – Alanina Aminotransferase

ALTV – altura de vilosidades

AST – Aspartato Aminotransferase

ATCC – American Type Culture Collection

AV – área de vilosidades

BAC – Dieta a base de milho e soja e farinha de carne ossos com bacitracina desde cria

BÇO– baço

C1 – contraste um

C2 – contraste dois

C3 – contraste três

C4 – contraste quatro

C5 – contraste cinco

CEC – ceco

CHCM – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média

CK – Creatina quinase

cm – centimentros

COL – Colesterol

COR – coração

CPE – Enterotoxina do Clostridium perfringens

CR3 – Receptor complementar 3

DUO – duodeno

EN – Enterite necrótica

EOS– eosinófilos

EPM – Erro Padrão da Média

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

FCO – Dieta a base de milho e soja e farinha de carne ossos desde cria

FDA – Food and Drug Administracion of United States

FIG – fígado

fL – fentolitros

FOS – Fósforo

FOS – Fruto-oligossacarídeos

FTU/g– Unidade de Turbidez Formazina por grama

g/dL – gramas por decilitro

g/kg – gramas por quilogramas

GOS – Galacto-oligossacarídeos

HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade

HEMA – hemácias

HEMO – hemoglobinas

HEMT – hematócrito

HET – heterofilos

IgA – Imunoglobulina A

ILE – íleo

INT – intestino

ISAPP – International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

JEJ – jejuno

kcal/kg – quilocalorias por quilo

LARGV – largura de vilosidades

LDH – Lactato Desidrogenase

LDL – Lipoproteínas de Baixa Densidade

LEU – leucócitos

LIN– linfócitos

mcg – microgramas

mg/dl – miligramas por decilitro

ml – mililitros

MOE – moela

MON – monócitos

MOS – Manano-oligossacarídeos

NetB – Toxina semelhante a toxina de enterite necrótica

OIE – World Organization for Animal Health

OVI – oviduto

PAN – pâncreas

PAP – papo

pH – Potencial hidrogeniônico

plc – Fosfolipase C

PPT – proteínas plasmáticas totais

PRO – proventrículo

PROFC – profundidade de criptas

PT – Proteínas Totais

RMS – Dieta a base de milho e soja desde cria

SIMC – Dieta a base de milho e soja e farinha de carne ossos com simbiótico desde cria

SIMP – Dieta a base de milho e soja e farinha de carne ossos com simbiótico desde produção

SIMR – Dieta a base de milho e soja e farinha de carne ossos com simbiótico desde recria

SPS – Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina

TGI – Trato gastrointestinal

TRI – Triglicerídeo

TROMB – trombócitos

UFC/g – Unidades Formadoras de Colônias por grama

UFC/kg – Unidades Formadoras de Colônias por quilo

UI – Unidade Internacional

UPP – Undecaprenol pirofosfato

URI– Ácido Úrico

V:C – relação vilo:cripta

VCM – volume corpuscular médio

vs – versus

WHO – World Health Organization

$\alpha$  – alfa

$\beta$  – beta

$\varepsilon$  – épsilon

$\iota$  – iota

$\mu\text{l}$  – microlitros

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1 MICROBIOTA INTESTINAL DAS AVES.....	14
2.1.1 Função da microbiota gastrointestinal .....	14
2.1.2 Composição da microbiota gastrointestinal .....	16
2.1.3 Composição microbiana de acordo com a idade .....	18
2.2 MELHORADORES DA MICROBIOTA INTESTINAL .....	19
2.2.1 Bacitracina de Zinco .....	20
2.2.2 Prebiótico .....	21
2.2.3 Mananos e Glucanos .....	22
2.2.4 Probióticos.....	24
2.3 SIMBIÓTICO SOBRE A SAÚDE DE AVES.....	25
2.4 <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> EM AVES .....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Local Experimental e Comitê de Ética .....	30
3.2 Animais e Delineamento Experimental.....	30
3.3 Alojamento e Manejo das Aves.....	30
3.4 Dietas Experimentais.....	31
3.5 Coleta de sangue e análises hematológicas e bioquímicas.....	32
3.6 Eutanásia e coleta de órgãos e tecidos .....	33
3.7 Histomorfologia intestinal.....	33
3.8 Contagem e resistência de <i>Clostridium perfringens</i> .....	34
3.9 Análises Estatísticas.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
5 CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57



## 1 INTRODUÇÃO

Desde 1970, agências internacionais como a Organização Mundial de Saúde (WHO), Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA), lançam normativas severas por meio de uma campanha pública global para limitar ou proibir o uso de antibióticos como aditivo alimentar. No dia 28 de janeiro de 2022 entrou em vigor uma lei que proíbe totalmente o uso de antibióticos como aditivo na alimentação animal na União Europeia, considerando que esta prática seja um dos fatores associados ao desenvolvimento da resistência microbiana (CARUSO, 2018; EUROPE UNION, 2022; FAO, 2020).

Tendo em vista o impacto da dinâmica das relações do agronegócio brasileiro e europeu, faz-se necessário a utilização abrangente de novas estratégias nutricionais. Possibilidades vêm sendo consideradas, com o objetivo de substituir os antibióticos por produtos naturais que não promovam a resistência bacteriana, entre estas possibilidades estão os simbióticos (MOHAMMED et al., 2019).

Simbióticos são descritos como uma mistura de microrganismos vivos e substratos seletivamente utilizados pelos mesmos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SWANSON et al., 2020). A combinação de probióticos e prebióticos de forma complementar afeta positivamente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou ativar o metabolismo de bactérias benéficas e reduzir a incidência de resistência bacteriana (HAMASALIM, 2016; SWANSON et al., 2020).

A suplementação de probióticos na alimentação de aves é vista como um melhorador de desempenho produtivo (SJOFJAN et al., 2020), responsável por aumentar a digestibilidade de nutrientes (MOUNTZOURIS et al., 2010), amplificar a riqueza microbiana do ceco (LV et al., 2022), melhorar a resposta imune (KHATTAB et al., 2021) e reduzir os níveis de colesterol sérico e da gema de galinhas poedeiras (DENG et al., 2020). A ingestão de prebióticos pode conceder vantagens para a saúde das aves, como, a modulação da microbiota cólica, aumentando o número de bactérias probióticas específicas, como os lactobacilos e bifidobactérias (MOOKIAH et al., 2014), auxílio na redução de bactérias patogênicas (JI; TIVEY, 1998) e melhora da absorção intestinal de minerais (YAN et al., 2019).

É evidenciado que um produto simbiótico pode proporcionar melhor modulação da microbiota intestinal em comparação à aplicação separada de probióticos e prebióticos e conseqüentemente reduzir a incidência de bactérias potencialmente patogênicas, como

34 *Clostridium perfringens* em aves (BIGGS; PARSONS; FAHEY, 2007; ŚLIŻEWSKA et al.,  
35 2020; VILLAGRÁN-DE LA MORA et al., 2019).

36 *Clostridium perfringens* é uma bactéria facultativamente anaeróbica, em forma de  
37 bastonete, gram-positiva, conhecida por produzir mais de 20 toxinas extracelulares que  
38 contribuem para a fisiopatologia de uma série de doenças histotóxicas e enterotóxicas, incluindo  
39 a enterite necrótica em aves (KIU; HALL, 2018).

40 As cepas de *C. perfringens* são classificadas em sete toxinótipos (do A até G), sendo a  
41 maioria dos genes dessas toxinas transportadas por plasmídeos conjugativos, alguns deles  
42 resistentes a antibióticos (ADAMS et al., 2018). O tipo G de *C. perfringens*, que produz a alfa-  
43 toxina (CPA) e a toxina de formação de esporos tipo B (NetB), é responsável por causar a  
44 enterite necrótica em aves (KEYBURN et al., 2010; SMYTH; MARTIN, 2010), que é uma  
45 doença economicamente importante, que resulta em perdas anuais de aproximadamente 2  
46 bilhões de dólares para o setor avícola mundialmente (LATORRE et al., 2018).

47 Estudos recentes demonstram os benefícios dos prebióticos e probióticos sobre a saúde  
48 de galinhas poedeiras (BOUASSI et al., 2021; KIMMINAU et al., 2021; YAQOOB et al.,  
49 2021), entretanto, os resultados não são conclusivos a respeito da melhor fase da vida da ave  
50 para sua inclusão. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da substituição da bacitracina de  
51 zinco por simbiótico a partir das fases de cria, recria e produção sobre os parâmetros  
52 hematológicos e bioquímicos, condições de órgãos (peso, comprimento e pH), contagem e  
53 resistência de *Clostridium perfringens* de poedeiras em fase final de postura.

## 54 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 55 2.1 MICROBIOTA INTESTINAL DAS AVES

#### 56 2.1.1 FUNÇÃO DA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL

57 Todo trato gastrointestinal (TGI) das galinhas é colonizado por comunidades  
58 microbianas complexas, compostas por vírus, protozoários, fungos, bactérias e arqueas (WEI;  
59 MORRISON; YU, 2013). O conjunto de interações entre o microbioma das aves e o hospedeiro  
60 vem sendo bastante estudado por muitos pesquisadores (KUMAR et al., 2018; KOGUT, 2017;  
61 YITBAREK, A et al 2018; WARD, T.L. et al. 2019), tendo em vista que tais fatores  
62 desempenham importantes funções na fisiologia, morfologia intestinal e nutrição das aves  
63 (GERRITSEN et al., 2011; KAU et al., 2011).

64 Uma microbiota intestinal em equilíbrio traz benefícios e custos para o hospedeiro. As  
65 principais atribuições que são dadas pela microbiota em equilíbrio, são a diminuição de  
66 bactérias patogênicas ou não nativas através do mecanismo de exclusão competitiva, o estímulo  
67 do sistema imune das aves e as contribuições para o metabolismo de nutrientes dos hospedeiros  
68 (DIBNER; RICHARDS, 2005). Estudos anteriores estabeleceram que animais criados de forma  
69 convencional são menos susceptíveis aos microrganismos patogênicos quando comparados  
70 com animais *germ-free* (AL-ASMAKH e ZADJALI, 2015; KOOPMAN et al., 1984). Além  
71 disso, a microbiota em simbiose pode estimular o desenvolvimento do sistema imune, incluindo  
72 a estimulação da mucosa intestinal, das células imunitárias intestinais (células T, células  
73 produtoras de imunoglobulinas e células fagocitárias) e da lâmina própria. Estes tecidos  
74 compõem barreiras entre as bactérias e o hospedeiro, auxiliando no combate a microrganismos  
75 intestinais indesejáveis (OAKLEY et al., 2014; SHAKOURI et al., 2009).

76 Na porção distal do intestino das aves, a microbiota também produz energia e nutrientes  
77 como aminoácidos, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), vitaminas e aminoácidos a partir do  
78 alimento não digerido, sendo estes disponíveis eventualmente para o hospedeiro (DIBNER;  
79 RICHARDS, 2005). Estes AGCC possuem componentes bacteriostáticos capazes de eliminar  
80 bactérias patogênicas, tais como *Salmonella spp* e *Clostridium perfringens* (RICKE, 2003;  
81 TIMBERMONT et al., 2010). Os AGCC também são uma fonte de energia para os animais e  
82 podem aumentar o estímulo para a proliferação de células epiteliais do intestino, assim,  
83 aumentando área de absorção gastrointestinal (DIBNER; RICHARDS, 2005).

84 Em contrapartida, a microbiota benéfica traz custos para o hospedeiro. No intestino  
85 delgado e na moela, os microrganismos competem com o hospedeiro por energia e proteína.

86 Tanto no intestino proximal como no distal, as bactérias produzem metabolitos tóxicos e  
87 catabolizam os ácidos biliares, que podem reduzir o crescimento das aves e diminuir a  
88 digestibilidade da gordura (GASKINS; COLLIER; ANDERSON, 2002). Na presença de uma  
89 microbiota diversificada, a camada intestinal de muco aumenta a secreção de mucina e o *turn*  
90 *over* das células epiteliais, mantendo assim o trato gastrointestinal lubrificado ao mesmo tempo  
91 em que impossibilita que os microrganismos invadam as células epiteliais intestinais das aves.  
92 O sistema imunitário intestinal mais desenvolvido secreta IgA, que se liga especificamente aos  
93 determinantes antigênicos bacterianos, auxiliando a regular a composição bacteriana no  
94 intestino (SUZUKI; NAKAJIMA, 2014). Embora geralmente benéficos, estes processos  
95 aumentam a demanda de energia e proteína do hospedeiro influenciando diretamente no  
96 desempenho de crescimento das aves.

97 Uma microbiota intestinal desequilibrada é frequentemente denominada como uma  
98 microbiota em disbiose, que pode ser conceituada como um desequilíbrio qualitativo e  
99 quantitativo da microbiota normal no intestino delgado, que pode trazer reações adversas ao  
100 TGI, incluindo a diminuição da função da barreira intestinal (como a redução das vilosidades  
101 intestinais) e da má digestão dos nutrientes, dessa forma aumentando o risco de colonização de  
102 bactérias patogênicas que possam causar uma resposta inflamatória. Tanto as condições de  
103 estresse infeccioso como não infecciosos podem levar à disbiose. As causas infecciosas incluem  
104 o desafio bacteriano, viral, coccidiose ou metabolitos tóxicos, como as toxinas produzidas por  
105 bactérias como o *Clostridium perfringens*. Os agentes não infecciosos incluem fatores de  
106 desequilíbrios nutricionais, estresse ambiental, micotoxinas e disfunção genética ou enzimática  
107 do hospedeiro (TEIRLYNCK et al., 2011).

108 A microbiota gastrointestinal pode ainda ser classificada como a microbiota da mucosa  
109 e a microbiota luminal. A composição da microbiota relacionada à mucosa é influenciada por  
110 vários agentes do hospedeiro, tais como a expressão de sítios específicos de adesão na  
111 membrana do enterócito, a secreção de imunoglobulinas e a proporção de produção de muco.  
112 A composição da microbiota luminal é estabelecida pelos nutrientes disponíveis, pela taxa de  
113 passagem de alimentos e pela presença de substâncias antimicrobianas. A microbiota da mucosa  
114 e a microbiota associada ao lúmen também se influenciam de forma mútua, por isso, é de suma  
115 importância considerar que a dieta pode modificar tanto a microbiota da mucosa quanto a do  
116 lúmen e, por consequência, influenciar a saúde intestinal (JEURISSEN SH1 et al., 2002).  
117 Estudos já comparam a composição taxonômica nessas duas partições em aves e destacam  
118 como a variabilidade muda de acordo com o alimento ou aditivo nas dietas das aves (AWAD

119 et al., 2016; METZLER-ZEBELI et al., 2019; PARASKEUAS; MOUNTZOURIS, 2019),  
120 porém não foi evidenciado ainda estudos sobre as funções metabólicas destes dois habitats  
121 microbianos. No entanto, o contínuo estudo sobre as variações entre as comunidades  
122 bacterianas do lúmen e da mucosa e estudos acerca das funções metabólicas sobre a microbiota  
123 de cada partição é de grande importância para melhor entendimento em relação à modulação  
124 da microbiota intestinal em aves. Além disso, o estudo da comunidade bacteriana ligada à  
125 mucosa é fundamental para compreender as respostas da mucosa do hospedeiro, uma vez que  
126 todas as alterações na imunidade da mucosa podem ter implicações na saúde e no desempenho  
127 produtivo das aves (BORDA-MOLINA et al., 2016).

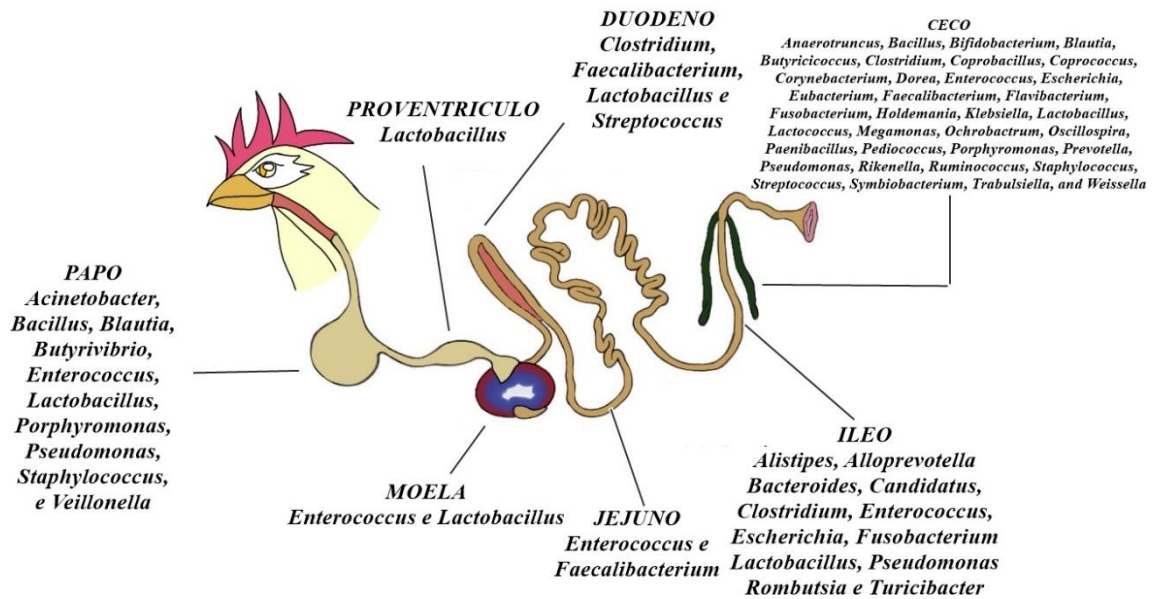
#### 128 2.1.2 COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL

129

130 O intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) das aves tem como função principal a digestão  
131 e a absorção de nutrientes do alimento (SOUSA et al., 2015). Assim como esses  
132 microambientes do intestino delgado, outros ambientes, como esôfago, papo, proventrículo e  
133 moela hospedam colônias microbianas que executam importantes funções no crescimento,  
134 saúde e desempenho produtivo do animal (CHRISTOFOLI et al., 2020).

135 A composição da microbiota do TGI em galinhas poedeiras se difere entre os segmentos, e  
136 sua composição é reflexo das mudanças físico químicas dos diferentes microambientes (Figura  
137 1). O pH do compartimento, os substratos de crescimento, o potencial oxidação-redução, as  
138 secreções antibacterianas e os metabólitos do hospedeiro e da microbiota influem diretamente  
139 na eficiência de colonização dos microrganismos nos segmentos intestinais. Os segmentos da  
140 parte proximal do intestino são caracterizados por pH baixo, que seleciona bactérias ácido  
141 tolerantes e elimina a maioria dos microrganismos patogênicos (THOMPSON; HINTON,  
142 1997).

143



144

145 **Figura 1.** A composição de microrganismos que predominam e a variação da diversidade do  
 146 microbiota do TGI em diferentes segmentos das aves. Adaptado de (KHAN et al., 2020)

147

148 O papo é responsável por armazenar o alimento durante períodos sem alimento e, por  
 149 umedecer o alimento antes da digestão enzimática, hospedam aproximadamente  $10^8$  a  $10^9$   
 150 bactérias por grama de conteúdo do papo (KIEROŃCZYK et al., 2016; YEOMAN et al., 2012).  
 151 A microbiota do papo é dominada em sua maioria por *Bacillus*, *Blautia*, *Enterococcus*,  
 152 *Lactobacillus*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* (SAXENA et al., 2016). As bactérias que  
 153 produzem ácido láctico, como os *Lactobacillus*, podem colonizar quase que totalmente esse  
 154 segmento, reduzindo sua proporção ao longo do TGI (CHRISTOFOLI et al., 2020).

155 O proventrículo é considerado como o verdadeiro estômago das aves. O proventrículo é a  
 156 parte do TGI que secreta ácido clorídrico e pepsina, auxiliando na digestão química e produção  
 157 do quimo, enquanto a moela atua como função mecânica sobre os alimentos (BEDFORD,  
 158 2006). Conjuntamente, tais órgãos abrigam menos bactérias, devido à acidez do ambiente  
 159 (REHMAN et al., 2007). A moela tem aproximadamente  $10^7$  a  $10^8$  de bactérias por grama de  
 160 quimo. As populações bacterianas predominantes na moela de frango incluem  
 161 *Enterobacteriaceae* e *Lactobacillus* (YEOMAN et al., 2012). Dentro do que foi reportado, no  
 162 proventrículo a população de microrganismos é de  $10^4$  a  $10^6$  UFC/g de bactérias. A microbiota  
 163 do proventrículo das aves é dominada por *Lactobacillus*, semelhante à moela, mas ao contrário

164 do papo, os *Lactobacillus* não aderem ao epitélio do proventrículo (FULLER; TURVEY, 1971;  
165 OAKLEY et al., 2014).

166 O intestino delgado das aves é dividido em três diferentes segmentos: o duodeno, o jejuno,  
167 e o íleo. O duodeno tem um curto tempo de trânsito com um pH baixo, que funciona para ativar  
168 as enzimas. As secreções pancreáticas e biliares ajudam na digestão, acabando por diluir o  
169 quimo e limitar o número de bactérias capazes de colonizar o TGI (REHMAN et al., 2007). É  
170 observado que a microbiota duodenal de aves consiste principalmente de *Clostridios*,  
171 *Estreptococcus*, *Enterobacterias* e *Lactobacillus* (WAITE; TAYLOR, 2015). Portanto, quando  
172 o quimo entra no jejuno e no íleo, há uma queda nas atividades enzimáticas digestivas, e os  
173 ácidos biliares são desconjugados, facilitando, assim, a colonização bacteriana com o aumento  
174 do pH nas porções seguintes (REHMAN et al., 2007), sendo o jejuno habitado por  
175 *Lactobacillus*, *Estreptococcus* e *Proteobacterias* e o íleo por *Lactobacillus*, *Enterococcus*,  
176 *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Fusobacterium* e *Coliformes*. O  
177 jejuno e íleo tem aproximadamente  $10^8$  a  $10^9$  bactérias por grama de digesta, enquanto o  
178 duodeno tem  $10^3$  a  $10^5$  (STANLEY; HUGHES; MOORE, 2014).

179 Os cecos contribuem em diversas funções na fisiologia aviária, como a, reciclagem de  
180 nitrogênio, a absorção de água e os eletrólitos. A microbiota cecal é capaz de realizar  
181 fermentação de alimento e sintetizar metabolitos, como os AGCC, que, em seguida podem ser  
182 utilizados pelo hospedeiro. O segmento intestinal possui a maior densidade bacteriana das aves,  
183 este segmento possui pH de conteúdo cecal que varia 6,0 a 7,0 e uma concentração bacteriana  
184 de  $10^{10}$  a  $10^{12}$  ufc/g, podendo ser colonizado por *Lactobacillus*, *Bacterioides*, *Proteobacteria*,  
185 *Bacillus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* e  
186 *Fusobacterium* (STANLEY; HUGHES; MOORE, 2014; SVIHUS, 2014).

### 187 2.1.3 COMPOSIÇÃO MICROBIANA DE ACORDO COM A IDADE

188 A estruturação da microbiota passa por diversas mudanças ao longo da vida das aves em  
189 função das modificações na função metabólica e na densidade celular (SHANG et al., 2018).  
190 As diferenças na estrutura da microbiota alteram-se com a idade, o que, por sua vez, altera a  
191 modulação e os mecanismos no intestino. A estrutura refere-se à densidade populacional total,  
192 à principal comunidade que coloniza o microambiente, à população nativa e a forma como esses  
193 microrganismos atuam entre si. Em um cenário favorável, esta estrutura populacional em  
194 equilíbrio, pode excluir populações bacterianas patogênicas. A estabilidade do intestino reduz  
195 a possibilidade de disbiose, resultando em microbiota saudável (FEYE et al., 2020).

196 A microbiota intestinal aumenta rapidamente do 1º ao 3º dia e, em torno do 7º, a maioria  
197 dos microrganismos que habitam na microbiota madura já está presente, portanto, o número de  
198 colônias varia semanas antes de se estabilizarem. Duas semanas após a eclosão, bactérias  
199 *Oscillopira* e *Ruminococcus* aumentam sua população significativamente, em contrapartida o  
200 número de *Enterococcus* é reduzido (BALLOU et al., 2016). Ao comparar galinhas com 8 e  
201 30 semanas de idade, é observado que bactérias do gênero *Firmicutes* e *Bacteroidetes* se tornam  
202 mais abundante no TGI (CUI et al., 2017). Ao avaliar o efeito da idade de poedeiras de 1 a 60  
203 semanas de idade na composição da microbiota intestinal foi observado que *Bacteroidetes*,  
204 *Firmicutes* e *Proteobacteria* formaram a grande maioria populacional da microbiota em todas  
205 as fases avaliadas (VIDENSKA et al., 2014). Esses dados mostram que as bactérias gram-  
206 negativas dominam o intestino em aves mais jovens, enquanto *Firmicutes* se torna mais presente  
207 na fase final do ciclo de galinhas poedeiras (KHAN et al., 2020).

208 Quando as galinhas envelhecem, a barreira intestinal é comprometida devido a alterações  
209 na constituição da microbiota intestinal, e estudos indicam que a redução da variação da  
210 microbiota possa desencadear a disbiose em aves velhas e, assim, é necessária a utilização de  
211 equilibradores da microbiota intestinal (BALLOU et al., 2016; MALIK et al., 2019; XU et al.,  
212 2016).

## 213 2.2 MELHORADORES DA MICROBIOTA INTESTINAL

214 Os aditivos alimentares atualmente ganharam grande importância na indústria avícola no  
215 que se refere à produção e saúde em função dos seus impactos benéficos, como proteção da  
216 saúde intestinal, aumento do desempenho produtivo e contribuição para o sistema imune das  
217 aves (ABD EL-HACK et al., 2020; ALAGAWANY et al., 2016; ARIF et al., 2020; SHEWITA;  
218 TAHA, 2019). Além disso, questões como a qualidade e processamento dos ingredientes das  
219 dietas, higiene, temperatura ambiental, composição genética e saúde dos animais, interferem no  
220 desempenho das aves (CHLEBICZ; ŚLIŻEWSKA, 2020; MOHAMED et al., 2019). Portanto,  
221 a indústria avícola atingiu altos progressos no seu sistema de produção nos últimos 50 anos  
222 devido a melhorias no manejo, aos avanços na nutrição e à genética (GADO et al., 2019). A  
223 utilização de aditivos alimentares aumentou e contribuiu para o sucesso alcançado na atual  
224 produção de aves (CHANGXING et al., 2019; SOOMRO et al., 2019). Os aditivos  
225 equilibradores da microbiota são frequentemente considerados produtos utilizados para ampliar  
226 a eficácia da utilização dos nutrientes e atuar sobre a melhoria do desempenho das aves  
227 (ASHOUR et al., 2020; SAEED et al., 2019). Existem diversos aditivos alimentares  
228 utilizados na alimentação no setor avícola, como antibióticos, prebiótico, probióticos, ácidos



229 orgânicos e enzimas (BIN-JUMAH et al., 2020; ELGEDDAWY et al., 2020; HUSSEIN et al.,  
230 2020). Estes são incluídos na alimentação das aves principalmente para propiciar maior  
231 crescimento através do seu efeito no aumento da ingestão de alimento (MAHROSE et al., 2019;  
232 WANG et al., 2019; YATOO et al., 2017).

233 A utilização de antibióticos em doses subterapêuticas é tipicamente usada para prevenir  
234 doenças e ajudar no ganho de peso (FONG et al., 2016). Porém, órgãos mundiais e  
235 consumidores passaram a ver subdosagem de antibióticos de forma negativa e,  
236 conseqüentemente, em alguns países, os antibióticos utilizados como essa finalidade foram  
237 totalmente banidos ou seu uso é restrito. E isso se deve principalmente à grande evidência de  
238 que os genes de resistência aos antibióticos podem ser transmitidos dos animais, ou produtos  
239 de origem animal, para seres humanos (VIECO-SAIZ et al., 2019; WORLD  
240 HEALTH ORGANIZATION, 2006). Mesmo com as proibições dos antibióticos pelos órgãos  
241 mundiais (WHO, UE, FDA) principalmente dos antibióticos de interesse à saúde humana, no  
242 Brasil, a Normativa de nº 01 de 13 de janeiro de 2020, determinada pelo Ministério da  
243 Agricultura, Pecuária e Abastecimento proíbi a utilização dos antibióticos tilosina, lincomicina  
244 e tiamulina, porém os antibióticos avilamicina, enramicina, virginiamicina e bacitracina de  
245 zinco ainda são permitidos como melhoradores de desempenho para aves (BRASIL, 2020)

#### 246 2.2.1 BACITRACINA DE ZINCO

247 A bacitracina é um antibiótico que pertencente a um grupo de polipeptídicos cíclicos de alto  
248 peso molecular sintetizado a partir de *Bacillus licheniformis* ou *subtilis* (GONZALES, 2009).

249 A bacitracina de zinco é o antibiótico mais utilizado em doenças digestivas, tendo em vista  
250 que é ativa contra bactérias gram-positivas e possui pouca absorção no trato gastrointestinal. A  
251 bacitracina forma um complexo com undecaprenol pirofosfato (UPP), que é o portador lipídico  
252 necessário para a translocação dos precursores do desenvolvimento celular através da  
253 membrana. Ao ligar-se à UPP, a bacitracina evita sua desfosforilação, um processo essencial  
254 para a reciclagem do transportador lipídico, interrompendo, assim, a biossíntese do polímero  
255 peptideoglicano da parede celular, tornando a bactéria osmoticamente ativa, ocasionando na  
256 sua lise. A sua ação requer cátions bivalentes, como o zinco (GONZALES; CARVALHO  
257 MELLO; CAFÉ, 2012; THEMA et al., 2019).

258 Estudos recentes demostram que a bacitracina produz efeitos sobre a diversidade da  
259 microbiota cecal, bioquímica sérica, qualidade de ovos, desempenho e morfologia intestinal de  
260 galinhas poedeiras (MIGLIORINI et al., 2019; NATSIR; WICAKSONO, 2020; RAMIREZ;

261 PEÑUELA-SIERRA; OSPINA, 2021). Entretanto, pouco se conhece sobre o uso contínuo a  
262 longo prazo da bacitracina de zinco sobre a saúde e o desempenho de poedeiras. Tendo em vista  
263 que a tendência mundial é o banimento e que, em alguns países, a bacitracina de zinco é proibida  
264 devido à resistência bacteriana que possa ser causada, a utilização de outros aditivos como  
265 prebióticos, probióticos e simbióticos são vistos como potenciais substitutos  
266 (BOGUSŁAWSKA-TRYK et al., 2021).

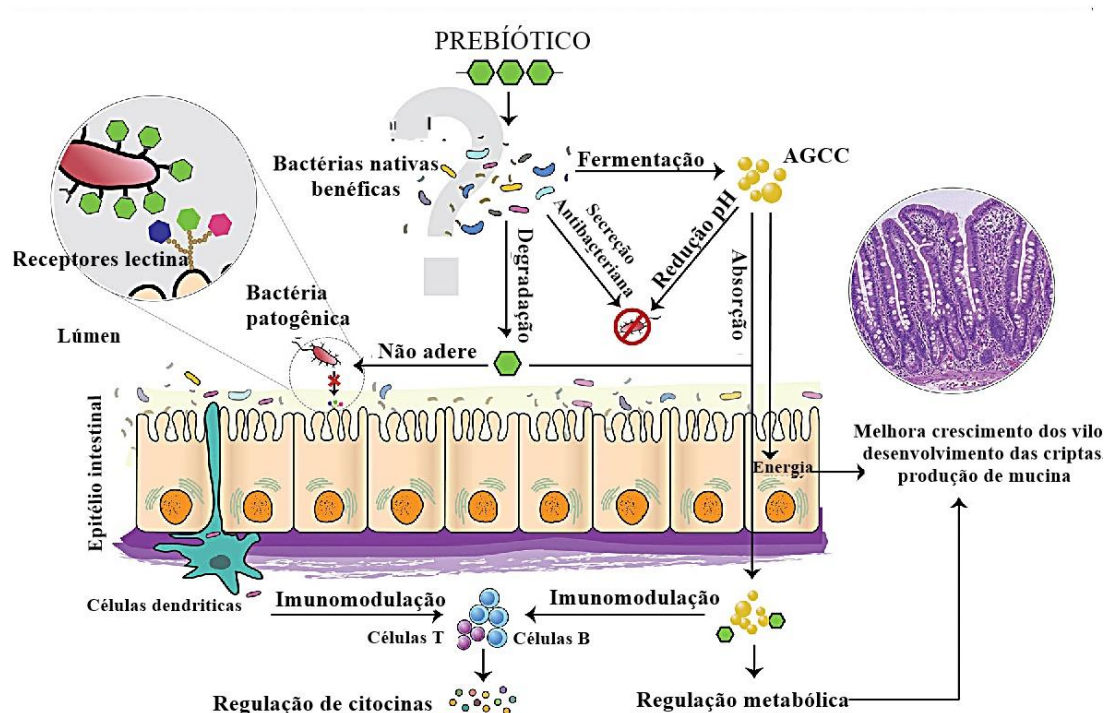
### 267 2.2.2 PREBIÓTICO

268 Prebiótico foi conceituado primeiramente em 1995 por Glenn Gibson e Marcel  
269 Roberfroid, apresentado como um aditivo alimentício não digerível que atua de forma positiva  
270 sobre o hospedeiro, estimulando o crescimento e atividade de bactérias no cólon e, assim,  
271 melhorando a saúde do animal. Essa definição foi mantida durante 15 anos, sendo  
272 posteriormente modificada, uma vez que, de acordo com esta definição, apenas alguns poucos  
273 compostos do grupo dos carboidratos, tais como os de cadeia curta e longa como os fruto-  
274 oligossacarídeos (FOS), inulina, e lactulose e galacto-oligossacarídeos (GOS), que podem ser  
275 definidos como prebióticos. Em 2008, no sexto Encontro da Associação Científica  
276 Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) houve a redefinição dos prebióticos, que  
277 passaram a ser descritos como um aditivo seletivamente fermentado que resulta em alterações  
278 específicas na atividade e na composição da microbiota e pode conferir benefícios para a saúde  
279 do hospedeiro (GIBSON et al., 2010).

280 Os prebióticos têm sido tradicionalmente representados por um grupo limitado de  
281 carboidratos e compostos associados como mananoligossacarídeos (MOS), GOS e (FOS) e  
282 Glucanos (SHOKRI et al., 2018). Estes compostos podem servir como substratos para certos  
283 microrganismos, como as bactérias lácticas e as bifidobactérias (HERNÁNDEZ et al., 2009;  
284 YOON; MUKERJEA; ROBYT, 2003).

285 Os prebióticos na dieta de poedeiras alteram a comunidade de bactérias dentro da  
286 microbiota intestinal. A ação dos prebióticos (Figura 2) é exercida através dessas populações  
287 bacterianas alteradas e dos metabólitos que são produzidos. Como não são digeríveis pelas  
288 enzimas hospedeiras, os prebióticos chegam ao intestino onde estão disponíveis para a  
289 microbiota residente como nutriente, sendo fermentados por ela (GOH; KLAENHAMMER,  
290 2015). A fermentação libera açúcares e AGCC que baixam o pH luminal intestinal, os principais  
291 AGCC são o acetato, propionato e butirato. A redução do pH luminal, fornece fontes de energia  
292 para as células epiteliais e tem efeitos diretos sobre os moduladores de inflamação e  
293 metabolismo. Uma comunidade bacteriana bem equilibrada também pode melhorar a estrutura

294 da mucosa intestinal. Algumas cepas bacterianas produzem fatores antimicrobianos ou  
 295 estimulam o sistema imunológico através da sinalização das células dendríticas.  
 296 Oligossacarídeos e monossacarídeos podem reduzir a colonização de patógenos bloqueando os  
 297 locais receptores utilizados pelos patógenos para a fixação à superfície da célula epitelial.  
 298 Ligado a estes mecanismos, os xilo-oligossacarídeos aumentam o número de lactobacilos no  
 299 cólon (DE MAESSCHALCK et al., 2015). Para aumentar o crescimento de certos membros da  
 300 comunidade microbiana intestinal benéfica, os prebióticos atuam como fonte de carbono e  
 301 energia para o crescimento de microrganismos do gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*  
 302 (MOURA et al., 2007). Certos prebióticos inibem o crescimento de patógenos no intestino  
 303 através da manipulação dos mecanismos de patogenicidade. Como a *Salmonella spp.* que pode  
 304 se ligar à manose via fimbrias, levando à inibição da colonização no intestino das aves (OYOFO  
 305 et al., 1989).



306

307

308 **Figura 2.** Ação do prebiótico. Adaptado de POURABEDIN; ZHAO, 2015.

309

310

### 311 2.2.3 MANANOS E GLUCANOS

312 Tipicamente, a parede celular de leveduras compõe os mananos e glucanos (Figura 3).  
 313 MOS é um aditivo produzido a partir da parede celular da *Saccharomyces cerevisiae*. Para

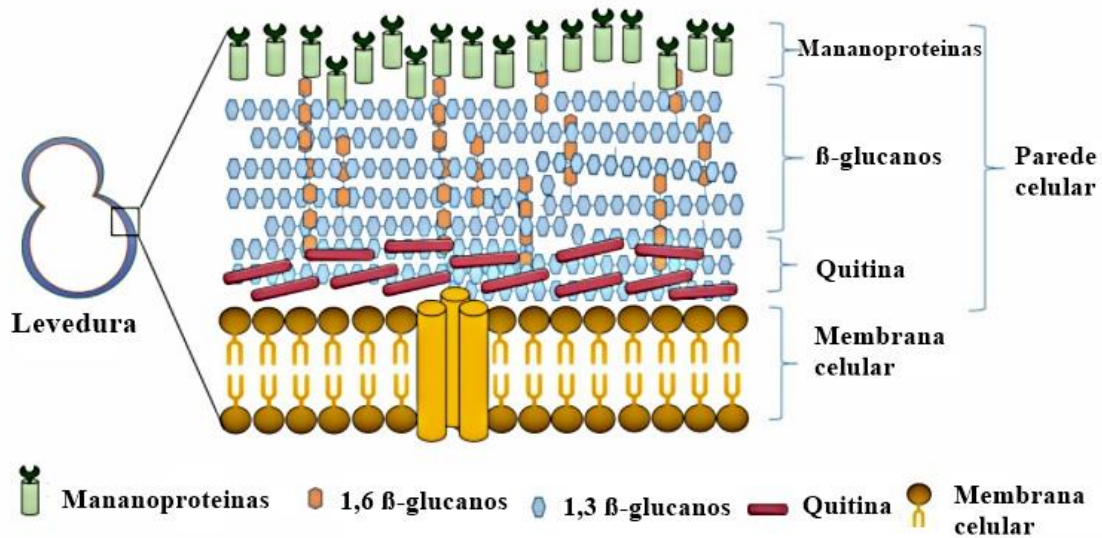
314 extrair MOS, a levedura passa por procedimentos químicos, enzimáticos e físicos. Em seguida  
315 ocorre a centrifugação, secagem por spray e em seguida a extração alcalina, que produz  $\alpha$ -  
316 manoproteínas. Na última fase, as manoproteínas são concentradas por ultrafiltração por  
317 membrana e secagem por spray, resultando em um produto de aspecto marrom caracterizado  
318 por ser MOS (KWIATKOWSKI; EDGAR, 2012). A parede celular de *Saccharomyces*  
319 *cerevisiae* representa em torno 25% do total da levedura. Ela consiste em principalmente quatro  
320 componentes, as mananoproteínas, quitina, N-acetilglucosamina e glucanos. A  
321 mananoproteína é composta de 50-90% de carboidratos, que são caracterizados como mananos  
322 (ANWAR et al., 2017).

323 Estudos recentes com mananos mostram resultados positivos, destacando o potencial  
324 dos MOS sobre a saúde, qualidade de ovos, desempenho, conversão alimentar e a saúde  
325 intestinal de poedeiras (KANMANEE et al., 2022; MOHANNAD M; YASSER J; NIHAD A,  
326 2020; TAO et al., 2021).

327 Glucanos são formados da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, são  
328 compostos com polimerização da glicose através de ligações  $\beta$ -1,3/1,6 glicosídicas. Possuem a  
329 habilidade de se conectar a diversos tipos de receptores de superfície celular em macrófagos e  
330 células polimorfonucleares que se ligam a receptores Dectin-1 ou CR3 (PALIĆ et al., 2006)  
331 que consequentemente ativa macrófagos e linfócitos, produção de citocinas inflamatórias,  
332 interleucinas e estimulam a fagocitose para eliminar bactérias patogênicas (BROWN et al.,  
333 2003).

334 Pesquisas recentes comprovam que os glucanos possuem efeito benéfico sobre a  
335 resposta imune, reduzindo a incidência de *Salmonella spp.* no ceco, melhorando o perfil de  
336 ácidos graxos do conteúdo cecal, aumentando a produção de ovos e a qualidade dos ovos,  
337 melhorias na digestibilidade de nutrientes e benefícios para microbiota intestinal  
338 (KARUNARATNE et al., 2022; PARK; SURESHKUMAR; KIM, 2020; ZHEN et al., 2020).

339



340 **Figura 3.** Estrutura da parede celular de uma levedura. Adaptado de ANWAR et al., 2017.

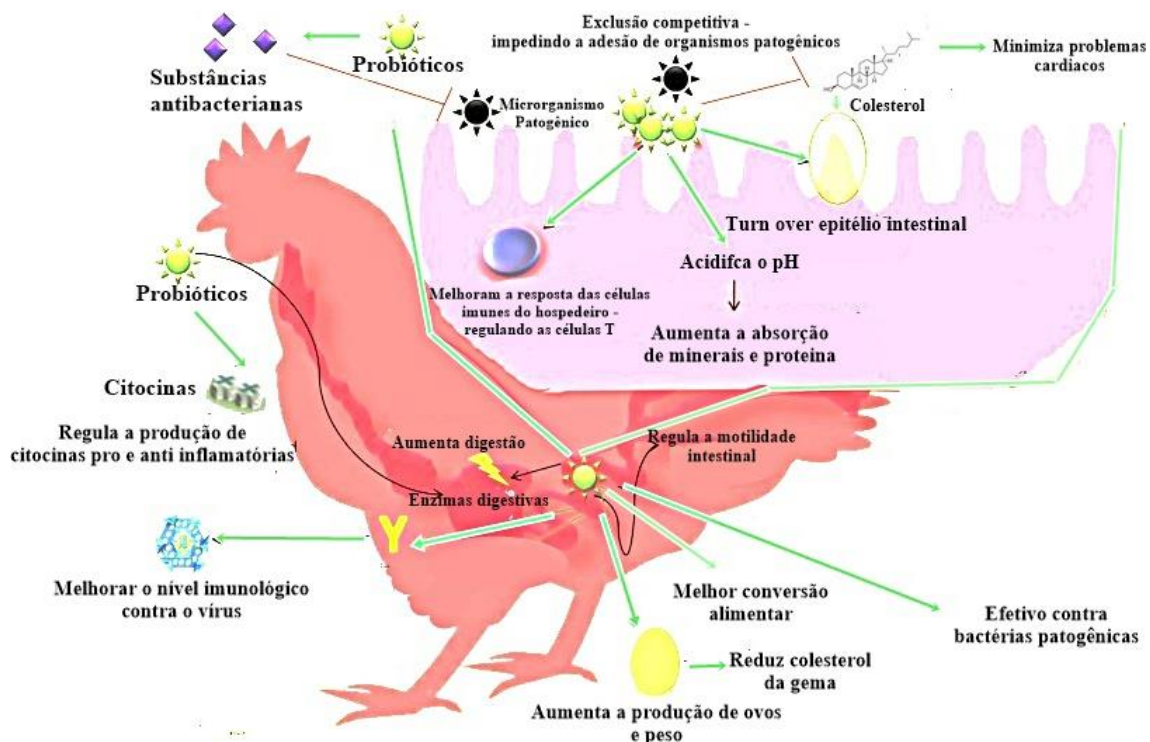
#### 341 2.2.4 PROBIÓTICOS

342 Os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do  
 343 hospedeiro e são considerados seguros (GADO; KHUSRO; SALEM, 2017). Os probióticos  
 344 também podem ser definidos como aditivo à base de microrganismos vivos que atuam de forma  
 345 favorável sobre o animal hospedeiro através do equilíbrio intestinal e, conseqüentemente,  
 346 melhorando a eficiência alimentar, a absorção e a digestão de nutrientes, o desempenho  
 347 produtivo e os aspectos econômicos em aves de produção (ABD EL-HACK et al., 2017).

348 Os microrganismos probióticos mais utilizados na nutrição animal são pertencentes aos  
 349 gêneros *Bacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* e  
 350 *Saccharomyces spp.* A seleção adequada de cepas probióticas pode mitigar os efeitos do uso de  
 351 antibióticos e está associada a numerosos benefícios devido à capacidade de inibir o  
 352 crescimento de potenciais patógenos (ALAYANDE; AIYEGORO; ATEBA, 2020; ROOBAB  
 353 et al., 2020).

354 Os probióticos possuem diversos mecanismos de ação (Figura 4) baseados na inibição  
 355 de bactérias patogênicas através da produção substâncias antibacterianas e de ácidos orgânicos  
 356 (TIWARI et al., 2012), atuando bloqueando a aderência de bactérias patogênicas aos sítios de  
 357 ligação do epitélio intestinal usando o mecanismo de exclusão competitiva (TIWARI et al.,  
 358 2012), modulação da resposta imune do hospedeiro através da sua ação sobre as células T e B  
 359 e enterócitos (FONG et al., 2016) e ação sobre o *turn over* das vilosidades intestinais (DING et  
 360 al., 2021), com ação direta sobre a secreção das enzimas digestivas. Ainda, os probióticos

361 podem agir sobre produção e regulação de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias,  
 362 podendo ativar várias células imunes e estimular a produção de anticorpos (FONG et al., 2016).  
 363 Além disso, os probióticos podem impulsionar a função da barreira epitelial e regular produção  
 364 de muco e a motilidade do intestino e estimular a acidificação intestinal que facilita a absorção  
 365 de proteínas e minerais (ZHANG et al., 2017). As cepas probióticas podem reduzir o risco de  
 366 doença cardiovascular devido à sua capacidade de baixar os níveis de colesterol tanto sérico,  
 367 quanto na gema (YOO; KIM, 2016; YOUSSEF et al., 2013). Em estudo, já é visto o potencial  
 368 dos probióticos contra a diminuição da ação de vírus (DING et al., 2021; RATHER et al., 2015).



369

370 **Figura 4.** Ação dos probióticos Adaptado de ALAGAWANY et al., 2018.

### 371 2.3 SIMBIÓTICO SOBRE A SAÚDE DE AVES

372 O tecido linfóide, associado ao intestino e à microbiota intestinal é componentes  
 373 fundamental da função e da homeostasia tanto do sistema digestivo quanto do sistema  
 374 imunológico. Os microrganismos do TGI podem ser geralmente separados em grupos benéficos  
 375 ou potencialmente patogênicos. Microrganismos prejudiciais podem estar envolvidos em  
 376 infecções sistêmicas ou localizadas, síntese de toxinas e degradação do epitélio intestinal.  
 377 Alguns organismos intestinais podem ter efeitos úteis como a produção de vitaminas,  
 378 estimulação do sistema imunológico através de mecanismos não patogênicos e inibição do  
 379 crescimento e estabelecimento de grupos microbianos prejudiciais (JEURISSEN SH1 et al.,  
 380 2002). A microbiota intestinal desempenha importante função na saúde das aves e quando entra

381 em desequilíbrio a saúde e o desempenho das aves podem ser afetados. Frequentemente para  
382 manter o equilíbrio da população microbiana intestinal, é necessário o uso de simbiótico  
383 (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; IMMERSEEL, 2011).

384 Simbiótico é definido como uma mistura de microrganismos vivos e substratos utilizados  
385 que serão utilizados por esses microrganismos de forma seletiva que por fim irá conferir efeitos  
386 benéficos ao animal que recebeu esse aditivo. Há duas classificações de simbióticos, os  
387 sinérgicos e os complementares. Os simbióticos sinérgicos são formados por microrganismos  
388 e substratos que vão atuar de forma conjunta sobre a microbiota do hospedeiro, onde por si só  
389 o microrganismo ou apenas o substrato vai atuar de forma positiva sobre o hospedeiro. De outra  
390 forma um simbiótico complementar é composto por um probiótico e um prebiótico que não  
391 possuam funções co-dependentes para atingirem um ou mais benefícios ao hospedeiro  
392 (SWANSON et al., 2020). Dentre essas categorias, os simbióticos sinérgicos são os mais  
393 utilizados na nutrição animal, tendo em vista que a ação conjunta sobre o hospedeiro ajuda a  
394 enfrentar desafios e aprimorar a saúde e o desempenho dos animais (MARKOWIAK;  
395 ŚLIŻEWSKA, 2018).

396 O estudo já constata ação antimicrobiana superior do simbiótico, ao testar um do probiótico  
397 (*Bifidobacterium sp.*), prebiótico (raízes de chicória) e simbióticos: (*Bifidobacterium sp.* +  
398 chicória) e (*Bifidobacterium sp.* + Inulina) contra bactérias patogênicas e foi observado que os  
399 simbióticos tiveram maior influência sobre a inibição dos patógenos (*Esherichia coli*, *Proteus*  
400 *mirabilis*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens*) (SALMAN, 2009).  
401 Estudos com poedeiras mostram o potencial superior dos simbióticos comparados com o uso  
402 separado do probiótico ou prebiótico sobre a redução de citocinas como as interleucinas, que  
403 indicam o estado imune e pró-inflamatório e melhorias no perfil microbiano e funcional do  
404 ceco. A utilização do aditivo simbiótico resulta em melhor relação dos componentes  
405 hematológicos e benefícios ao lipidograma sérico e à concentração de enzimas produzidas pelo  
406 fígado, implicando em melhora do estado hepático, além de aumentar o teor de  
407 imunoglobulinas, atuar contra infecções causadas por *Salmonella Enteritidis* e proporcionar  
408 colonização da microbiota benéfica, desencadeando em aumento da área absorptiva das  
409 vilosidades (ABDELQADER; AL-FATAFATAH; DAŞ, 2013; LUOMA et al., 2017;  
410 MARKAZI et al., 2018; MURATE et al., 2015; PINEDA-QUIROGA et al., 2019; SALMAN,  
411 2009; TANG et al., 2017).

412 É evidenciado que um produto simbiótico pode proporcionar uma melhor modulação da  
413 microbiota intestinal em relação à aplicação separada de probióticos e prebióticos e



414 consequentemente reduzir a incidência de bactérias potencialmente patogênicas, como  
 415 *Clostridium perfringens* em aves (ŚLIŻEWSKA et al., 2020; VILLAGRÁN-DE LA MORA et  
 416 al., 2019). A maioria dos estudos com simbióticos, que avaliam fatores inerentes à saúde em  
 417 aves de produção se concentram em trabalhos com frangos de corte, e apenas um estudo foi  
 418 evidenciado com poedeiras na fase final (64 a 75 semanas de idade) (ABDELQADER; AL-  
 419 FATAFTA; DAŞ, 2013).

#### 420 2.4 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EM AVES

421

422 *Clostridium perfringens* é uma bactéria anaeróbica, sem motilidade, gram-positiva e  
 423 formadora de esporos, encontrada comumente na microbiota nativa das aves, e produz pelo  
 424 menos 20 toxinas virulentas (LI et al., 2013; ROOD et al., 2018). *C. perfringens* apresenta  
 425 desenvolvimento rápido com tempo de multiplicação de 8 a 12 minutos quando semeada em  
 426 meio ideal a 43 °C e que pode se estender por 12 a 17 minutos quando se encontra em  
 427 temperatura de 37 °C. Tendo em vista que *C. perfringens* seja uma das colônias dominantes da  
 428 microbiota intestinal, isso pode causar a enterite necrótica em aves (KIU; HALL, 2018).

429 Seis toxinas têm sido usadas para identificar as cepas, sendo estas classificadas em sete  
 430 tipos, de A à G, dependendo de sua capacidade de produção de  $\alpha$ -toxina,  $\beta$ -toxina,  $\epsilon$ -toxina,  $\iota$ -  
 431 toxina, enterotoxina e Net-B toxina (ROOD et al., 2018) (Tabela 1). A princípio, *C. perfringens*  
 432 tinha cinco toxinótipos baseados na presença da  $\alpha$ -toxina,  $\beta$ -toxina,  $\epsilon$ -toxina ou  $\iota$ -toxina. No  
 433 entanto, a evidenciação de novos genes de toxinas e doenças mediadas por *C. perfringens*  
 434 específicas de toxina levou à classificação de sete toxinótipos de *C. perfringens*. Na nova  
 435 estrutura de toxinotipagem, *C. perfringens* tipo F produz  $\alpha$ -toxina e enterotoxina, mas não  $\beta$ -  
 436 toxina,  $\epsilon$ -toxina,  $\iota$ -toxina ou toxina NetB, e é um importante patógeno entérico que causa  
 437 intoxicação alimentar em humanos (KEYBURN et al., 2010; ROOD et al., 2018).

438

439

440

441 Tabela 1. Classificação dos tipos de toxinas produzidas por *Clostridium perfringens*

Toxina produzida (gene estrutural)					
$\alpha$ -toxina	$\beta$ -toxina	$\epsilon$ -toxina	$\iota$ -toxina	CPE	NetB



Tipo	(cpa)	(cpb)	(etx)	(iap)	(cpe)	(netB)
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	±	-
D	+	-	+	-	±	-
E	+	-	-	+	±	-
F	+	-	-	-	-	-
G	+	-	-	-	-	+

442 O símbolo (+) indica a presença da toxina e o símbolo (-) indica a ausência da toxina

443 Todos os toxinótipos de *C. perfringens* podem secretar altos níveis extracelulares de  $\alpha$ -  
444 toxina, que é catalogada pelo gene cromossômico plc. A  $\alpha$ -toxina é uma metalbiomolécula de  
445 zinco com uma fosfolipase C (plc) que é responsável pela esfingomielinase, fosfolipase e  
446 atividades hemolíticas (KIU; HALL, 2018). Assim, a  $\alpha$ -toxina tem sido considerada um  
447 importante fator de virulência nas lesões da enterite necrótica (EN). Por tanto, a toxina NetB é  
448 agora vista como a principal toxina responsável pela enterite necrótica em aves (KEYBURN et  
449 al., 2010). Sendo assim, *C. perfringens* do tipo G é responsável pela EN em galinhas, pois  
450 possui genes que codificam as duas toxinas, a  $\alpha$ -toxina e NetB (ROOD et al., 2018). Em  
451 contrapartida, *C. perfringens* tipo A só pode produzir  $\alpha$ -toxina, mas não  $\beta$ -toxina,  $\varepsilon$ -toxina,  $\iota$ -  
452 toxina, enterotoxina ou a toxina NetB. Um desvio para o esquema dos sete toxinótipos é um  
453 caso relatado que mostrou o gene NetB em *C. perfringens* tipo do C, que foi isolado de galinhas  
454 poedeiras com caso subclínico de enterite necrótica (ALLAART et al., 2012). No entanto, o  
455 gene NetB só é evidenciado em cepas de *Clostridium perfringens* do tipo G (ROOD et al.,  
456 2018).

457 Os estudos atuais que envolvem aves e *Clostridium perfringens*, se resumem a pesquisas  
458 sobre aves desafiadas com *C. perfringens* e uso de aditivos para o controle, contagem da  
459 bactéria e associação com a dieta, e isolamento do *C. perfringens* de produtos avícolas ou de  
460 aves de estabelecimentos para estudo da presença e perfil de resistência (ABDEL-LATIF et al.,  
461 2021; LI et al., 2021; SANDVANG et al., 2021; ZHANG et al., 2022). Porém são escassos os  
462 estudos que avaliam o uso prolongado de aditivos sobre a colonização e resistência de *C.*  
463 *perfringens* em poedeiras, tendo em vista que é corrente a disseminação desse microrganismo  
464 como uma bactéria multirresistente, e isso representa um sério desafio, devido à escassez de  
465 estudos sobre poedeiras em fase final.

466 Concomitantemente, a resistência aos antibióticos é uma questão alarmante devido a uma  
467 crise emergente de saúde pública, um dos principais desafios da saúde do século 21 (ALI;  
468 ISLAM; GIASUDDIN, 2019; MARSHALL; LEVY, 2011).

### 469 3 MATERIAL E MÉTODOS

470

#### 471 3.1 LOCAL EXPERIMENTAL E COMITÊ DE ÉTICA

472 O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal  
473 Rural de Pernambuco (UFRPE), aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal local (Licença  
474 número 060/2019).

#### 475 3.2 ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

476 Foram utilizadas 198 aves da linhagem Dekalb White, com 70 semanas de idade,  
477 distribuídas em delineamento inteiramente casualizado composto por 6 tratamentos e 6  
478 repetições, sendo 3 unidades experimentais com 6 aves e 3 unidades com 5 aves. Os tratamentos  
479 consistiram de quatro dietas experimentais combinado com grupos de aves selecionadas para o  
480 experimento, um grupo delas já estavam sendo alimentadas com o simbiótico desde a fase de  
481 cria (SIMBC, 1 a 5 semanas), um segundo grupo consumiu o simbiótico a partir de fase de  
482 recria (SIMBR, 6 a 16 semanas) e um último começou a consumir o simbiótico no início da  
483 postura (SIMBP, 17 semana de idade), formando os seguintes tratamentos experimentais: T1-  
484 RMS (aves que receberam uma dieta a base de milho e farelo de soja); T2-FCO (aves que  
485 receberam uma dieta composta por milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos sem  
486 aditivos); T3-BAC (aves que receberam uma dieta igual a T2-FCO acrescido de 0,05% de  
487 bacitracina de zinco); T4-SIMC dieta com T2-FCO com 0,1% de aditivo simbiótico; T5-SIMR  
488 dieta com T2-FCO com 0,1% de aditivo simbiótico e T6-SIMP dieta com T2-FCO com 0,1%  
489 de aditivo simbiótico, totalizando seis tratamentos.

490 O suplemento simbiótico utilizado era composto por: prebióticos (Mananos 52g/kg e  
491 Glucanos 28g/kg) e probióticos (*Saccharomyces cerevisiae* 2,00x10<sup>11</sup> UFC/kg, *Bifidobacterium*  
492 *bifidum* - 2,0x10<sup>11</sup>UFC/kg, *Bacillus subtilis* 2,88x10<sup>11</sup> UFC/kg, *Enterococcus faecium* -  
493 2,08x10<sup>11</sup> UFC/kg, *Lactobacillus acidophilus* - 1,04x10<sup>11</sup> UFC/kg).

#### 494 3.3 ALOJAMENTO E MANEJO DAS AVES

495 O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa com Aves da UFRPE, no galpão  
496 de poedeiras equipado com 36 gaiolas (100x45x50cm) com capacidade para oito aves,  
497 equipadas com bebedouro tipo copo, comedouro calha e sistema de iluminação controlado por  
498 timer automático.

499 As aves selecionadas e submetidas ao experimento receberam uma ração de postura de  
500 70 a 90 semanas de idade que foi fornecida de forma controlada, a fim de atender as exigências

501 suas nutricionais, obedecendo às recomendações da tabela da linhagem comercial Dekalb  
502 White (Manual de Manejo das Poedeiras Dekalb White, 2009). A água foi fornecida *ad libitum*).

503 O programa de luz adotado foi de 12 horas de luz natural e mais 4 horas de luz artificial  
504 durante o período experimental.

### 505 3.4 DIETAS EXPERIMENTAIS

506 As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja e acrescidas de farinha de  
507 carne e ossos (Tabela 2), formuladas de acordo com as exigências nutricionais das aves  
508 conforme o Manual da Linhagem DEKALB (Manual de Manejo das Poedeiras Dekalb White,  
509 2009) e Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO, 2017).

510 Tabela 2. Composição das dietas experimentais

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>RMS</b>	<b>FCO</b>	<b>BAC</b>	<b>SIM (C,R e P)*</b>
Milho 7,86%	60,164	60,118	60,118	60,118
Farelo de soja 45%	24,391	22,973	22,973	22,973
Farinha de Carne e Ossos 43%	-----	1,491	1,491	1,491
Óleo de soja	1,059	1,058	1,058	1,058
Calcário	10,790	10,696	10,696	10,696
Fosfato Bicálcico	0,500	-----	-----	-----
Sal (NaCl)	0,279	0,257	0,257	0,257
Bicarbonato de Sódio	0,150	0,150	0,150	0,150
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	0,150	0,150	0,150	0,150
Premix. Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
DL-metionina 99	0,254	0,261	0,261	0,261
L-Lisina 78,5	0,039	0,052	0,052	0,052
Fitase <sup>3</sup>	0,006	0,006	0,006	0,006
Inerte	2,170	2,738	2,688	2,638
Bacitracina de zinco	-----	-----	0,050	-----
Simbiótico	-----	-----	-----	0,100
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Composição Nutricional Calculada, %</b>				
EM (kcal/kg)	2750	2750	2750	2750
Proteína Bruta	15,989	15,989	15,989	15,989
Fósforo Disponível	0,370	0,370	0,370	0,370
Cálcio	4,500	4,500	4,500	4,500
Sódio	0,207	0,207	0,207	0,207
Cloro	0,232	0,228	0,228	0,228
Potássio	0,639	0,621	0,621	0,621
<b>Aminoácidos Digestíveis, %</b>				
Metionina + Cistina	0,749	0,749	0,749	0,749
Metionina	0,481	0,487	0,487	0,487
Ácido Linoleico	1,869	1,863	1,863	1,863
Lisina	0,764	0,764	0,764	0,764
Treonina	0,592	0,586	0,586	0,586
Triptofano	0,200	0,194	0,194	0,194

Arginina	0,980	0,978	0,978	0,978
Leucina	1,311	1,295	1,295	1,295
Histidina	0,393	0,386	0,386	0,386
Fenilalanina	0,713	0,700	0,700	0,700
Fenilalanina + tirosina	1,271	1,242	1,242	1,242
Glicina + Serina	1,272	1,335	1,335	1,335
Valina	0,692	0,684	0,684	0,684

- 511 <sup>1</sup> Premix Vitamínico (fornece por quilograma do produto): vit. D3, 2.500.000,00 UI; vit. A, 9.000,00 UI; vit.;
- 512 vit. E, 20.000,00 UI; vit. K3 (Menadiona) 2.500,00 mg; vit. B1 (Tiamina) 2.000,00 mg; B2 (Riboflavina) 6.000,00 mg;
- 513 B6 (Piridoxina) 3.000,38 mg; B12 (Cobalamina ) 15.000,00 mg; Niacina (Ac. Nicotínico) 35.000,00 mg; Ac. Pantotênico,
- 514 12.000,000 mg; Ac. Fólico, 1.500,00 mg; Selênio, 250,00 mg; Biotina, 100,000 mg.
- 515 <sup>2</sup> Premix Mineral (fornece por quilograma do produto): Cobre, 20.000,000 mg; Ferro, 100.000,000 mg; Manganês, 130.000,000 mg;
- 516 Iodo, 2.000,00 mg; Zinco, 130.000,000 mg.
- 517 <sup>3</sup> Fitase: 10,000 FTU/g
- 518 \*Dieta que continha simbiótico = SIMC: Simbiótico na cria; SIMR: Simbiótico na recria; SIMP: simbiótico na produção

519

## 520 3.5 COLETA DE SANGUE E ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

521

522 Às 89 semanas, foi coletado 4 ml de sangue da veia ulnar de uma ave por repetição para

523 a realização das análises hematológicas. As amostras sanguíneas foram acondicionadas em

524 tubos contendo EDTA (Microtainer ®), acondicionadas em recipiente refrigerado e, em

525 seguida, enviadas para laboratório especializado – LabPET.

526 A contagem das células foi realizada em câmara Neubauer utilizando o diluente Natt e

527 Henrick. Foram onde foram quantificados valores de de eritrograma: hemácias, hemoglobinas,

528 hematócrito, volume corpuscular médio, Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média,

529 proteínas plasmáticas totais. E de leucograma, foram avaliados: leucócitos, heterófilos,

530 linfócitos, monócitos, eosinófilos e trombócitos.

531 No início da 90<sup>a</sup> semana de idade, foi realizada a colheita de 4 ml de sangue via veia

532 ulnar de duas aves por repetição, acondicionada em tubos com ativado de coágulo para obtenção

533 do soro sanguíneo, sendo o soro armazenado em Eppendorf de 1,5 ml sérica e em seguida as

534 amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV) do

535 Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde

536 foram analisadas por meio de kits comerciais da Bioclin® e analisador bioquímico automático

537 (BIOCLIN 1000) previamente calibrado com calibradores e controles da mesma marca,

538 conforme metodologia descrita pelo fabricante.

539 As variáveis analisadas foram a atividade de ácido úrico, proteínas totais, creatina

540 quinase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, lactato desidrogenase, fósforo,

541 lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de baixa densidade, triglicerídeos e colesterol.

542

### 543 3.6 EUTANÁSIA E COLETA DE ÓRGÃOS E TECIDOS

544 Ao final do experimento (90 semanas), uma ave por unidade experimental foi  
545 selecionada dentro do peso médio da parcela e eutanasiada por deslocamento cervical para  
546 coleta dos órgãos, onde foram pesados baços, cecos, coração, fígado, intestino delgado, oviduto  
547 e pâncreas em balança analítica e posteriormente o intestino delgado, ceco e oviduto foram  
548 mensurados o comprimento com fita métrica. Para aferir o pH do conteúdo dos órgãos, foram  
549 utilizados bisturis estéreis para expor o conteúdo do papo, proventrículo, moela, duodeno,  
550 jejuno, íleo e ceco (direito), e a leitura do pH foi feita com um pHmêtro digital calibrado da  
551 Kasvi®, sendo sempre higienizado com água destilada a cada avaliação.

552

### 553 3.7 HISTOMORFOLOGIA INTESTINAL

554

555 Pedacos de 2 centímetros de segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo)  
556 foram conservados em frascos contendo solução de formol a 10%, identificados e armazenados  
557 em local adequado. As análises foram processadas no laboratório de Patologia Animal do  
558 Departamento de Medicina Veterinária e no Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) da  
559 Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando as metodologias descritas por  
560 (JUNQUEIRA, 2008). As amostras passaram pelos seguintes procedimentos: clivagem,  
561 fixação, emblocagem, cortes, coloração e a montagem das lâminas. No processo de clivagem,  
562 os segmentos eram cortados possuindo aproximadamente 5mm de comprimento. Na fixação, o  
563 material foi desidratado, submetido a diferentes concentrações crescentes de álcool e clarificado  
564 por xilol, impregnados e incluídos em parafina em diferentes etapas (álcool absoluto I: 30  
565 minutos, álcool absoluto II: 30 minutos, álcool absoluto III: 30 minutos; álcool e xilol: 20  
566 minutos; xilol I: 10 minutos, xilol II: 10 minutos; parafina I: 45 minutos; parafina II: 45  
567 minutos). Na emblocagem, o material foi inserido em parafina e, em seguida, foram cortados  
568 em 5µm de espessura, com o auxílio do micrótomo manual Leica® RM 2125 RT, específico  
569 para cortar tecidos em parafinas, sendo os cortes obtidos transferidos para o banho-maria a 40°C  
570 e posteriormente dispostos em lâminas de vidro com ponta fosca, produzindo-se triplicatas do  
571 corte histológico.

572 Para coloração, as lâminas foram desparafinadas em estufa a 60°C. Logo em seguida,  
573 estas foram submetidas a uma série decrescente de banhos de álcoois (100%, 90% e 70%)  
574 durante 2 minutos e lavadas em água destilada por 6 minutos. As lâminas foram coradas com  
575 hematoxilina por 12 segundos. O excesso de corante foi retirado em água corrente por 10  
576 minutos. Em seguida, as lâminas foram submersas em eosina por 5 minutos. Continuou-se a

577 coloração com a desidratação das lâminas em série crescente de banhos de álcoois (70%, 90%,  
578 100% I e 100% II). A montagem das lâminas foi realizada com lamínula e Bálsamo do  
579 Canadá®. Todos os cortes histológicos foram analisados através de imagens digitalizadas,  
580 obtidas em aumentos de 10 vezes com auxílio de uma câmera acoplada a um microscópio,  
581 ligada a um computador, utilizando um *software* analisador de imagens Leica® Qwin D-1000,  
582 versão 4.1. As medidas foram realizadas pelo programa computacional S-EYE®.

583 Os parâmetros analisados foram: altura e largura das vilosidades, profundidade das  
584 criptas, relação vilo/cripta e a área de vilosidades. Para cada segmento e variável, foram  
585 realizadas 10 medidas, totalizando 50 medidas por tratamento de cada variável. A partir das  
586 mensurações dos vilos e das criptas, utilizou-se uma fórmula proposta por Sakamoto et al.,  
587 (2000) para avaliar a área de superfície de absorção os segmentos, segue a fórmula:  
588  $AV = 2\pi \times (LARGV/2) \times ALTV$ , onde LARGV = largura das vilosidades e ALTV = altura das  
589 vilosidades.

590

### 591 3.8 CONTAGEM E RESISTÊNCIA DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

592

593 O ceco esquerdo foi separado com tesoura estéril para realizar posteriormente a  
594 contagem e isolamento para resistência de *C.perfringens* seguindo a normativa Métodos  
595 Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem  
596 Animal e Água (BRASIL, 2003), armazenado em tubos e acondicionado a -20°C por 24 horas  
597 e posteriormente levado para análise microbiológica no Laboratório de Inspeção de Carne e  
598 Leite (LICAL), do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE. Foi pesado 1,0±0,01  
599 gramas do conteúdo cecal de cada amostra e homogeneizado em 9 ml de água salina a 0,9% em  
600 vortex por 30 segundos, a partir dessa diluição foram obtidas mais duas diluições subsequentes  
601 em água salina. As diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) foram colocadas em placas de petri contendo  
602 meio específico, o ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina, utilizando a técnica per plate. As placas  
603 com as diluições inoculadas foram encubadas a 45°C por 24 horas em jarras de anaerobiose em  
604 sistema de microaerofilia. As placas apresentaram contagem reduzida, então, foi padronizada a  
605 contagem na primeira diluição( $10^{-1}$ ). Colônias escuras com diametro maior que 1 mm foram  
606 contadas e expressas em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g). Testes  
607 confirmatórios de coloração gram, prova de motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose,  
608 lactose e sacarose), indol, catalase e beta hemólise foram feitos realizando utilizando a cepa  
609 controle de *C. perfringens* (ATCC 13124), cedida pelo Labortório de Microbiologia do  
610 Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Pernambuco (LFDA-PE).

611 O método de difusão em disco, como descrito por Bauer et al. (1966), foi realizado para  
612 determinar o padrão de sensibilidade de isolados de *C.perfringens* a vários antibióticos,  
613 utilizando ágar Muller Hinton, de acordo com as diretrizes do CLSI (CLINICAL AND  
614 LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2014). Pool das colônias por tratamentos  
615 isoladas de *C. perfringens* plaqueadas em ágar sangue foi selecionado e suspenso em solução  
616 de cloreto de sódio 0,9% para um padrão MacFarland 0,5 e em seguida semeado em placas de  
617 ágar Muller Hinton usando um suabe estéril. Foram usados discos da CECON®, ampicilina 2  
618 mcg, ciprofloxacina 5 mcg, eritromicina 15 mcg, gentamicina 10 mcg, neomicina 30 mcg,  
619 lincomicina 2 mcg, tetraciclina 30 mcg e bacitracina 10 UI, onde foram encubados a 37° C por  
620 24 horas. Os halos de inibição formados frente a cada antibiótico eram mensurados e expressos  
621 em milímetros e, de acordo com o tamanho, era determinado como resistente (R); intermediário  
622 (I) ou sensível (S) aos antibióticos conforme os valores que constam no CLSI.

623

### 624 3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

625

626 Os dados obtidos foram analisados pelo procedimento GLM do programa Statistical  
627 Analysis System versão 9.4, e as médias comparadas pelo método de contrastes ortogonais  
628 ( $P \leq 0,05$ ).

629 Os contrastes consistiram em C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMC;  
630 C4: BAC vs SIMR; C5: BAC vs SIMP.

631 O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$632 Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

633 Onde:  $Y_{ij}$  = observação,  $\mu$  = constante média da população comum a todas as  
634 observações,  $T_i$  = efeito da dieta e  $\epsilon_{ij}$  = termo de erro aleatório.



635 **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**636 **Resultados**637 **Hematologia e bioquímica das aves**

638 Para as variáveis hematológicas referentes ao eritrograma (Tabela 2) não houve diferença  
639 significativa ( $P>0,05$ ) entre as médias dos tratamentos contrastados. A adição de aditivos não  
640 influenciou nas médias dos grupos para as variáveis.

641 **Tabela 3.** Valores médios de hemácias (HEMA), hemoglobinas (HEMO), hematócrito  
642 (HEMT), volume corpuscular médio (VCM), Concentração da Hemoglobina Corpuscular  
643 Média (CHCM), proteínas plasmáticas totais (PPT), das aves de acordo com os tratamentos.

	HEMA ( $10^6/\mu\text{l}$ )	HEMO (g/dL)	HEMT (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	PPT (g/dL)
TRATAMENTOS**	<i>Eritrograma</i>					
RMS	2,39	10,03	30,00	126,28	33,41	8,91
FCO	2,32	10,26	30,83	133,13	33,21	8,65
BAC	2,40	10,56	31,66	131,65	33,20	9,20
SIMC	2,44	10,18	31,50	126,38	32,33	8,58
SIMR	2,49	10,11	31,50	131,74	32,89	8,74
SIMP	2,45	10,21	30,50	125,01	32,65	7,90
Média	2,41	10,23	31,00	129,03	32,95	8,66
EPM***	0,04	0,12	0,37	1,26	0,16	0,22
CONTRASTES#	<i>p-value</i>					
C1	0,6351	0,6063	0,5400	0,1077	0,7190	0,7293
C2	0,5725	0,4967	0,5400	0,7217	0,9761	0,4769
C3	0,8292	0,3888	0,9022	0,2330	0,1262	0,4449
C4	0,5649	0,3129	0,9022	0,9835	0,6001	0,5699
C5	0,7687	0,4309	0,3924	0,1188	0,3260	0,0994

644 \*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais ( $p<0,05$ ).

645 \*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne  
646 e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC:

647 dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de recria

648 SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

649 \*\*\*Erro Padrão da Média.

650 #Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

651

652 Para as variáveis hematológicas referentes ao leucograma apresentados na Tabela 4, os  
653 leucócitos (LEU), heterófilos (HET), monócitos (MON) não apresentaram diferenças  
654 estatísticas entre as médias dos tratamentos quando aplicado o teste contrastes ortogonais. As  
655 demais variáveis foram significativas ao teste de contraste ortogonais ( $P<0,05$ ).

656

657 **Tabela 4.** Valores médios de leucócitos (LEU), heterofilos (HET), linfócitos (LIN), monócitos  
658 (MON), eosinófilos (EOS), trombócitos (TROMB), das aves de acordo com os tratamentos

TRATAMENTOS**	LEU	HET	LIN	MON	EOS	TROM
	(/ $\mu$ l)					
RMS	2512,33	840,16	1013,20	130,26	158,16	33917,66
FCO	3100,66	1388,66	880,20	121,96	155,83	39863,66
BAC	3349,83	1606,33	1180,83	189,26	137,80	25934,40
SIMC	3894,25	1346,50	1433,25	141,08	441,00	37687,33
SIMR	4519,50	1910,33	1893,83	140,45	181,66	35426,16
SIMP	3115,00	1320,60	1221,80	252,44	187,00	38191,00
Média	3395,33	1407,93	1282,48	274,82	198,81	35126,90
EPM***	268,24	122,55	115,50	33,52	26,72	1887,34
CONTRASTES#	<i>p-value</i>					
C1	0,5063	0,1676	0,7263	0,4032	0,9752	0,3294
C2	0,7776	0,5783	0,4112	0,0580	0,8190	0,0356*
C3	0,5818	0,5530	0,5164	0,4401	0,0017*	0,1326
C4	0,1917	0,4388	0,0480*	0,9345	0,5788	0,1426
C5	0,7996	0,4873	0,9102	0,7086	0,5513	0,0730

659 \*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais ( $p < 0,05$ ).

660 \*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne  
661 e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC:

662 dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de recria

663 SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

664 \*\*\*Erro Padrão da Média.

665 #Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMC; C4: BAC vs SIMR; C5: BAC vs SIMP.

666

667 A inclusão de simbiótico a partir da recria resultou em maior número de linfócitos em  
668 comparação à dieta com bacitracina (C4). Os eosinófilos (EOS) no SIMC se mostraram 31,24%  
669 maior comparado ao tratamento com bacitracina (BAC). No contraste 2, os trombócitos  
670 (TROM) apresentaram diferenças significativas, onde o tratamento com bacitracina (BAC)  
671 indicou menor número de em relação ao tratamento apenas com farinha de carne e ossos (FCO).

672 Para as variáveis de bioquímica sérica referente às enzimas hepáticas e ao fósforo  
673 (Tabela 5), houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos para todas as variáveis,  
674 com exceção da creatina quinase (CK). O contraste 1 apresentou diferença estatística na  
675 concentração de ácido úrico (URI), alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase  
676 (LDH). Onde as médias de URI e LDH foram menores nas aves que consumiram a dieta apenas  
677 com milho e farelo de soja; ALT foi maior para dietas com FCO. No contraste 2, houve  
678 diferença nas proteínas totais (PT), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase  
679 (ALT), lactato desidrogenase (LDH) e fósforo (FOS). As médias de PT, AST, ALT e FOS  
680 foram maiores para o tratamento com adição de bacitracina de zinco. Apenas a média do LDH  
681 que se mostrou superior no tratamento com farinha de carne e ossos em comparação com a  
682 concentração do tratamento com bacitracina. O contraste 3 (BAC vs SIMC) apenas não  
683 apresentou diferença entre a concentração de creatina quinase (CK) e o lactato desidrogenase

(LDH). A média das concentrações de URI, PT, AST, ALT e FOS foram maiores no tratamento com adição do antibiótico em relação ao tratamento em que as aves receberam o aditivo simbiótico desde a fase de cria. O contraste 4 (BAC vs SIMR) teve o mesmo comportamento do contraste 3 (BAC vs SIMC), onde as médias das concentrações dos metabolitos das aves do tratamento com antibiótico foram maiores em comparação com o tratamento com simbiótico na alimentação das aves desde o décimo quinto dia de idade. Com exceção do LDH, que teve diferença significativa e apresentou médias maiores no tratamento com bacitracina, o contraste 5 (BAC vs SIMP) obteve exatamente os mesmos resultados do contraste 3 (BAC vs SIMC), onde as médias das concentrações de URI, PT, AST, ALT e FOS foram significativas e superiores no tratamento com adição da bacitracina de zinco, em contraste com tratamento em que as aves receberam o aditivo simbiótico desde o início da fase de postura.

695

**Tabela 5.** Valores médios de Ácido Úrico (URI), Proteínas Totais (PT), Creatina quinase (CK), Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT), Lactato Desidrogenase (LDH) Fósforo (FOS) sanguíneos das galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	URI (mg/dL)	PT (mg/dL)	CK (UI/L)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	LDH (UI/L)	FOS (mg/dL)
RMS	4,48	5,80	1,557	183,83	24,06	810,05	6,73
FCO	6,22	5,89	1,453	171,82	17,68	1154,18	6,95
BAC	6,85	7,32	1,154	253,25	38,25	873,13	11,45
SIMC	3,68	5,39	1,259	171,01	13,95	763,77	5,51
SIMR	3,70	5,31	1,194	172,76	11,21	574,11	5,18
SIMP	2,76	5,01	1,106	146,91	10,78	642,52	6,21
Média	4,53	5,74	1,282	183,94	16,95	814,70	7,00
EPM***	0,295	0,15	0,007	7,44	1,31	46,75	0,56
CONTRASTES#		(p-value)					
C1	0,0007*	0,7844	0,6946	0,5192	<0.001*	0,0081*	0,8971
C2	0,1474	0,0013*	0,2626	0,0001*	<0.001*	0,0346*	0,0111*
C3	<.0001*	<0.001*	0,6770	<0.001*	<0.001*	0,3943	0,0012*
C4	<.0001*	<0.001*	0,8729	<0.001*	<0.001*	0,0418*	0,0007*
C5	<.0001*	<0.001*	0,8501	<0.001*	<0.001*	0,0790	0,0037*

699 \*Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.

700 \*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais ( $p < 0,05$ ).

701 \*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC:

702 dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de recria  
703 SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

704 \*\*\*Erro Padrão da Média.

705 #Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

706

707

708 Referente ao lipidograma sérico (Tabela 6), houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para  
709 a concentração de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e colesterol (COL), e não houve  
710 diferença significativa nas concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e  
711 triglicerídeos (TRI). No contraste 2 (FCO vs BAC), houve diferença para a dosagem de

712 colesterol (COL), onde o tratamento à base de milho e soja apresentou maior média comparada  
 713 com o tratamento com farinha de carne e ossos. No contraste 3, 4 e 5 (BAC vs SIMC, SIMR e  
 714 SIMP respectivamente), houve diferença para a concentração de HDL, evidenciando um  
 715 aumento das médias do HDL nos tratamentos com adição de simbiótico.

716  
 717  
 718  
 719  
 720

**Tabela 6.** Valores médios de Lipoproteínas de Alta Densidade (HDL) Lipoproteínas de Baixa Densidade (LDL), Triglicerídeos (TRI), Colesterol (COL) sanguíneo das galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	HDL	LDL	TRI	COL
mg/dL				
RMS	41,25	11,32	993,81	143,71
FCO	32,28	15,40	991,57	118,76
BAC	24,12	6,20	988,51	171,25
SIMC	46,90	7,96	976,55	144,06
SIMR	45,74	11,94	989,20	137,01
SIMP	61,81	9,25	983,71	173,08
Média	40,01	10,46	987,52	147,98
EPM***	2,49	1,26	2,52	6,82
CONTRASTES#		<i>p-value</i>		
C1	0,0708	0,3515	0,8055	0,2770
C2	0,0713	0,0508	0,7370	0,0268*
C3	<0.001*	0,6996	0,1962	0,2371
C4	<0.001*	0,2137	0,9401	0,1392
C5	<0.001*	0,5042	0,5566	0,9357

721  
 722  
 723  
 724  
 725  
 726  
 727  
 728  
 729  
 730  
 731

\*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais ( $p < 0,05$ ).

\*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de recria SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

\*\*\*Erro Padrão da Média.

#Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

## 732 Avaliação de órgãos

733 Para peso relativo dos órgãos (Tabela 7), não foram encontradas significativas ( $p > 0,05$ )  
 734 entre os tratamentos experimentais para o peso do baço, ceco, coração, intestino, oviduto.  
 735 Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas para peso relativo do fígado e pâncreas. No  
 736 contraste 4 e 5 (BAC vs SIMR e SIMP respectivamente), houve diferença significativa para o  
 737 peso relativo do fígado (FIG), onde as médias mostram que os tratamentos com adição com  
 738 simbiótico na recria e produção (SIMR/SIMP), e as aves apresentaram fígados mais pesados  
 739 quando comparados àquelas submetidas às dietas com o antibiótico bacitracina de zinco. No

740 contraste 1 (RMS vs FCO), houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para o peso do pâncreas  
 741 (PAN), evidenciando uma maior média no tratamento apenas daquelas aves alimentadas com a  
 742 dieta à base de milho e farelo de soja em comparação àquelas aves que consumiram a dieta que  
 743 tinham em sua composição a FCO.

744

745 **Tabela 7.** Valores médios de peso relativo (%) de baço (BÇO), ceco (CEC), coração (COR),  
 746 fígado (FIG), intestino (INT), oviduto (OVI) e pâncreas (PAN), das galinhas poedeiras de  
 747 acordo com os tratamentos

Tratamentos**	BÇO	CEC	COR	FIG	INT	OVI	PAN
	%						
RMS	0,078	0,419	0,370	2,66	4,19	4,12	0,217
FCO	0,065	0,416	0,378	2,64	4,25	4,13	0,171
BAC	0,063	0,359	0,375	2,30	4,16	3,89	0,181
SIMC	0,067	0,322	0,322	2,50	4,17	3,68	0,157
SIMR	0,079	0,367	0,386	2,88	3,99	3,97	0,167
SIMP	0,072	0,352	0,391	2,92	4,13	3,67	0,186
Média	0,071	0,372	0,370	2,65	4,15	3,91	0,180
EPM***	0.003	0.012	0.008	0.062	0.078	0.088	0.006
CONTRASTES#	<i>p-value</i>						
C1	0,2269	0,9830	0,7854	0,9067	0,8868	0,9717	0,0340*
C2	0,8639	0,1788	0,9030	0,0729	0,8136	0,4579	0,6312
C3	0,6899	0,3860	0,0779	0,2712	0,9847	0,5166	0,2628
C4	0,1382	0,8470	0,6797	0,0036*	0,5563	0,8048	0,5077
C5	0,3833	0,8802	0,5711	0,0054*	0,9039	0,4977	0,8062

748

\*Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.

749

\*\*RMS= dieta a base de milho e soja desde a fase de cria, FCO: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de recria; SIMP= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de produção.

752

\*\*\* Erro Padrão da Média

753

#C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

754

755

Referente ao comprimento dos órgãos (Tabela 8), não houve diferença para o intestino  
 758 (INT) e oviduto (OVI); apenas o ceco (CEC) apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ), onde  
 759 a média no tratamento com a bacitracina de zinco (BAC) foi menor quando comparada à média  
 760 no tratamento com farinha de carne e ossos (FCO).

761

762

763

**Tabela 8.** Valores médios do comprimento de ceco (CEC), intestino delgado (INT) e oviduto (OVI) de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	CEC	INT	OVI
	cm		
RMS	12,66	143,91	59,16
FCO	14,25	144,00	63,16
BAC	11,50	135,33	65,16
SIMC	10,41	137,16	63,66

SIMR	13,08	138,83	61,50
SIMP	12,41	140,00	62,00
Média	12,38	139,87	62,44
EPM***	0,407	1,963	1,139
CONTRASTES <sup>#</sup>		<i>p-value</i>	
C1	0,2397	0,9907	0,3362
C2	0,0459*	0,2291	0,6286
C3	0,4183	0,7968	0,7165
C4	0,2397	0,6236	0,3774
C5	0,4928	0,5136	0,4451

764  
765  
766  
767  
768  
769  
770  
771  
772  
773  
774  
775  
776

\*Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.  
 \*\*RMS= dieta a base de milho e soja desde a fase de cria, FCO: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de recria; SIMP= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de produção.  
 \*\*\* Erro Padrão da Média  
<sup>#</sup>C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

777  
778  
779  
780  
781  
782  
783  
784  
785  
786  
787  
788

Em relação ao pH do conteúdo dos órgãos (Tabela 9), não houve diferença significativa para o proventrículo (PRO), moela (MOE), jejuno (JEJ) e íleo (ILE). Houve diferença significativa para o pH do papo, duodeno e ceco ( $p > 0,05$ ). No contraste 4 e 5 (BAC vs SIMR, SIMP), o pH do papo mostrou que o aditivo simbiótico alterou o pH de papo, tornando-o mais ácido quando comparado com o tratamento com antibiótico. O pH de aves que receberam simbiótico na fase de postura (SIMP) se mostrou menos ácido comparado ao tratamento com antibiótico (BAC), referente ao C5. Diferença significativa no contraste 1 (RMS vs FCO) para o pH do duodeno (DUO) q apresentou um pH mais ácido para àquelas aves alimentadas com a dieta que continha FCO em comparação àquelas que consumiram dietas à base milho e farelo de soja.

**Tabela 9.** Médias de pH do papo (PAP), proventrículo (PRO), moela (MOE), duodeno (DUO), jejuno (JEJ), íleo (ILE) e ceco (CEC), de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	PAP	PRO	MOE	DUO	JEJ	ILE	CEC
RMS	4,57	5,36	4,72	5,99	5,85	6,41	5,66
FCO	4,70	5,50	4,81	5,80	5,94	6,12	5,57
BAC	4,90	5,45	4,87	5,89	5,81	6,57	5,46
SIMC	5,10	5,55	4,83	5,89	5,87	6,53	5,89
SIMR	4,52	5,38	4,76	5,83	5,82	6,37	5,67
SIMP	4,55	5,34	4,84	5,80	5,74	6,20	6,02
Média	4,72	5,43	4,81	5,87	5,83	6,37	5,72
EPM***	0,055	0,053	0,052	0,020	0,022	0,074	0,067
CONTRASTES****		<i>p-value</i>					
C1	0,4048	0,4530	0,6790	0,0065*	0,2822	0,2680	0,6936
C2	0,2077	0,7789	0,7368	0,1593	0,1341	0,0925	0,6381

C3	0,2471	0,6092	0,8428	0,9898	0,4280	0,8976	0,0745
C4	0,0285*	0,7537	0,5644	0,2939	0,8617	0,4423	0,3881
C5	0,0422*	0,5921	0,8563	0,1593	0,3756	0,1781	0,0237*

789 \*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais ( $p < 0,05$ ).

790 \*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo  
791 de soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase  
792 de cria; SIMC:

793 dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico  
794 desde a fase de recria SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

795 \*\*\*Erro Padrão da Média.

796 \*\*\*\*Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs  
797 SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

798

## 799 **Histomorfologia intestinal**

800 Os resultados da histomorfologia do duodeno, apresentados na Tabela 10, mostram que  
801 houve diferença ( $P > 0,05$ ) significativa para altura de vilosidades (ALTV), profundidade de  
802 criptas (PROF), relação vilo cripta (V:C) e área de vilosidade (AV) dentre os tratamentos  
803 contrastados.

804 Para ALTV, quando contrastado SIMR e SIMP com o BAC (C4 e C5), identifica-se que  
805 o simbiótico obteve um maior comprimento de vilosidade. Para PROF, houve apenas  
806 diferença significativa entre os tratamentos FCO e BAC (C2), onde o tratamento com  
807 antibiótico indicou uma maior média. Para V:C e AV, foi observado que o uso do simbiótico  
808 na recria e produção obtiveram maiores médias comparadas com o antibiótico bacitracina de  
809 zinco desde fase inicial das aves (C4 e C5). E, no C2 para PROF, o antibiótico apresentou  
810 uma maior profundidade comparada ao tratamento FCO.

811

812 **Tabela 10.** Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV),  
813 profundidade de criptas (PROF), relação vilo:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do  
814 duodeno de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	ALTV ( $\mu\text{m}$ )	LARGV ( $\mu\text{m}$ )	PROF ( $\mu\text{m}$ )	V:C ( $\mu\text{m}$ )	AV ( $\mu\text{m}^2$ )
RMS	994,08	152,50	112,12	8,86	476,064
FCO	1009,30	140,61	110,74	9,14	445,647
BAC	1016,56	138,48	137,82	6,63	442,268
SIMC	1025,42	139,38	136,06	7,55	449,046
SIMR	1144,53	144,21	140,57	8,14	518,586
SIMP	1156,58	146,61	135,20	8,63	532,890
Média	1061,86	143,48	129,63	8,12	478,860
EPM***	0,1933	0,1936	0,1710	0,1906	0,1902
CONTRASTES#			p-value		
C1	0,0632	0,1928	0,7388	0,6857	0,3011
C2	0,3179	0,7951	<.0001*	0,0010*	0,8966
C3	0,2225	0,9122	0,6415	0,1715	0,7984
C4	<.0001*	0,4856	0,4869	0,0309*	0,0081*
C5	<.0001*	0,2731	0,4409	0,0039*	0,0008*

815 \*Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.  
 816 \*\*RMS= dieta a base de milho e soja desde a fase de cria, FCO: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos;  
 817 BAC: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria;  
 818 SIMC= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR=  
 819 dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de recria; SIMP= dieta a  
 820 base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de produção.

821 \*\*\* Erro Padrão da Média

822 #C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

823

824 Os resultados histomorfológicos do jejuno sumarizados na Tabela 11 mostram que  
 825 houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para todas as variáveis avaliadas dentre os contrastes.  
 826 Na ALTV, os tratamentos com aditivos resultaram em maiores médias dessa variável, sendo no  
 827 C2 (FCO vs. BAC) o tratamento com bacitracina obtendo maior média. E ficou evidenciado  
 828 que a utilização do simbiótico a partir de qualquer fase trouxe uma maior média (C3, C4 e C5)  
 829 ALTV do jejuno em comparação com o tratamento BAC, e o mesmo comportamento foi  
 830 apresentado para a relação vilosidade/cripta e área de vilosidades do jejuno. Na LARGV, foi  
 831 observado no C4 (SIMR vs. BAC) que a utilização do simbiótico na recria atribuiu uma maior  
 832 largura de vilosidade. Para profundidade de cripta, foram apresentadas diferenças em todos os  
 833 contrastes, destacando os tratamentos com os aditivos possuindo médias maiores. E quando  
 834 comparado os tratamentos com simbiótico e a bacitracina, os tratamentos com simbiótico se  
 835 mostraram maiores em relação ao tratamento com antibiótico. Para a relação vilosidade/cripta e área  
 836 de vilosidades, foi observada diferença significativa nos contrastes C2 a C4, destacando as  
 837 maiores médias dessas variáveis para os tratamentos com aditivos e a superioridade do  
 838 simbiótico independente da fase sobre o antibiótico.

839 **Tabela 11.** Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV),  
 840 profundidade de criptas (PROFC), relação vilosidade:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do  
 841 jejuno de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	ALTV ( $\mu\text{m}$ )	LARGV ( $\mu\text{m}$ )	PROFC ( $\mu\text{m}$ )	V:C ( $\mu\text{m}$ )	AV ( $\mu\text{m}^2$ )
RMS	540,90	125,92	90,93	5,95	213,99
FCO	539,27	125,93	88,74	6,07	213,35
BAC	546,57	127,55	93,31	5,86	219,02
SIMC	750,37	128,56	117,13	6,40	303,06
SIMR	739,60	136,78	111,03	6,66	317,78
SIMP	625,85	126,98	106,22	6,14	260,26
Média	611,06	128,19	99,18	6,14	246,75
EPM***	0,1868	0,1875	0,1776	0,1834	0,1886
CONTRASTES#			<i>p-value</i>		
C1	0,5176	0,9991	0,0399*	0,0702	0,8297
C2	0,0094*	0,2688	0,0001*	0,0036*	0,0655
C3	<.0001*	0,5397	<.0001*	<.0001*	<.0001*
C4	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*
C5	<.0001*	0,7260	<.0001*	0,0010*	<.0001*

842 \*Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.

843 \*\*RMS= dieta a base de milho e soja desde a fase de cria, FCO: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos;

844 BAC: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria;



845 SIMC= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR=  
846 dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de recria; SIMP= dieta a  
847 base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de produção.

848 \*\*\* Erro Padrão da Média

849 #C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP

850

851 Os resultados da morfologia do íleo apresentados na Tabela 12 mostram que houve  
852 diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para altura de vilosidades, V:C e AV nos contrastes C1 e C2,  
853 destacando maiores médias para FCO quando comparada com RMS, e maiores médias para  
854 BAC quando comparada a FCO. Mesmo não havendo diferença significativa, o simbiótico  
855 mostrou médias um pouco superior ou aproximada ao tratamento com bacitracina para relação  
856 de vilos e criptas e área de vilosidades respectivamente, destacando, assim, o mesmo efeito da  
857 bacitracina de zinco e simbiótico independente de fase de inserção na dieta sobre a  
858 histomorfometria do íleo.

859 **Tabela 12.** Valores médios da altura de vilosidades (ALTV), largura de vilosidades (LARGV),  
860 profundidade de criptas (PROFC), relação vilos:cripta (V:C) e área de vilosidades (AV) do íleo  
861 de galinhas poedeiras de acordo com os tratamentos

Tratamentos**	ALTV ( $\mu\text{m}$ )	LARGV ( $\mu\text{m}$ )	PROFC ( $\mu\text{m}$ )	V:C ( $\mu\text{m}$ )	AV ( $\mu\text{m}$ )
RMS	416,09	100,38	86,37	4,82	131,21
FCO	444,57	100,82	88,45	5,02	140,83
BAC	480,14	99,86	86,43	5,55	150,63
SIMC	486,60	96,52	87,32	5,57	147,59
SIMR	486,60	96,65	85,98	5,68	148,45
SIMP	488,76	98,41	85,99	5,59	148,64
Média	468,40	98,60	86,99	5,40	145,00
EPM***	0,1904	0,1980	0,1974	0,1944	0,1927
CONTRASTES#	p-value				
C1	0,0008*	0,8431	0,0706	0,0685	0,0162*
C2	<.0001*	0,5845	0,0781	<.0001*	0,0144*
C3	0,3831	0,0678	0,4211	0,8742	0,4179
C4	0,2067	0,0558	0,6533	0,1965	0,5239
C5	0,9132	0,3897	0,6746	0,7089	0,5743

862 Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o teste de Contrastes Ortogonais.

863 \*\*RMS= dieta a base de milho e soja desde a fase de cria, FCO: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos;  
864 BAC: dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria;  
865 SIMC= dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR=  
866 dieta a base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de recria; SIMP= dieta a  
867 base de milho e soja e farinha de carne e ossos com adição de simbiótico desde a fase de produção.

868 \*\*\* Erro Padrão da Média

869 \*\*\*\* C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP

870

## 871 Contagem e antibiograma do *Clostridium perfringens*

872 Para a contagem de *Clostridium perfringens* (Tabela 13), houve diferença significativa  
873 ( $P > 0,05$ ). Houve diferença no contraste 1 (RMS vs FCO), 3 e 4 (BAC vs SIMC, SIMR). No  
874 contraste 1, foi observado que o número de unidades formadoras de colônias (UFC/g) de

875 *Clostridium perfringens* no tratamento com ração-referência à base de milho e soja foi 63%  
 876 superior ao número encontrado no conteúdo cecal no tratamento com FCO. No contraste 3  
 877 (BAC vs SIMC), ao comparar os dois aditivos inseridos na dieta das aves no mesmo período,  
 878 conseguimos visualizar uma menor contagem no tratamento com o simbiótico. E observou-se  
 879 o mesmo no contraste 4 (BAC vs SIMR), onde a média de UFC/g de *Clostridium perfringens*  
 880 foi menor no tratamento com simbiótico. Em contrapartida, ao contrastarmos BAC vs SIMP,  
 881 não encontramos diferença estatística entre as médias de colônias de *Clostridium perfringens*,  
 882 e o mesmo ocorre ao contrastarmos o FCO vs BAC.

883 **Tabela 13.** Médias das contagens de  
 884 *Clostridium perfringens* do conteúdo  
 885 cecal de aves poedeiras de acordo com  
 886 os tratamentos

TRATAMENTOS**	<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/g)
RMS	12,16
FCO	7,66
BAC	7,50
SIMC	3,16
SIMR	4,50
SIMP	6,33
Média	6,88
EPM***	0,54
CONTRASTES#	(p-value)
C1	<.0001*
C2	0.8652
C3	0.0001*
C4	0.0044*
C5	0.2402

910 \*Diferença significativa no teste de contrastes ortogonais (p<0,05).

911 \*\*RMS: Dieta a base de milho e farelo de soja desde a fase de cria; FCO: dieta a base de milho, farelo de soja e farinha de carne e ossos; BAC: dieta FCO com adição de bacitracina de zinco desde a fase de cria; SIMC:

912 dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de cria; SIMR: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de recria SIMP: dieta FCO com adição de simbiótico desde a fase de produção.

921 \*\*\*Erro Padrão da Média.

922 #Contrastes ortogonais: C1: RMS vs FCO; C2: FCO vs BAC; C3: BAC vs SIMBC; C4: BAC vs SIMBR; C5: BAC vs SIMBP.

926 Na Tabela 14, mostram-se os resultados do antibiograma. Os isolados de *Clostridium*  
 927 *perfringens* apresentaram resistência a ampicilina frente aos tratamentos com FCO e BAC, os

928 demais tratamentos foram sensíveis a este antibiótico. Nenhum isolado foi resistente à  
 929 ciprofloxacina. Para o antibiótico eritromicina, houve resistência das bactérias isoladas no  
 930 tratamento com antibiótico. Para os aminoglicosídeos, houve resistência bacteriana no  
 931 tratamento que se utilizou o antibiótico bacitracina de zinco, e no tratamento RMS e SIMP  
 932 houve resistência bacteriana intermediária para gentamicina e neomicina, respectivamente. Para  
 933 a lincomicina, houve resistência nos tratamentos RMS, FCO e BAC, sendo sensível e  
 934 intermediário para tratamentos que continham simbiótico. Para os antibióticos tetraciclina e  
 935 bacitracina, houve apenas resistência do *Clostridium perfringens*, onde ocorreu a administração  
 936 do antibiótico bacitracina de zinco.

937 **Tabela 14.** Perfil de susceptibilidade de *Clostridium perfringens* isolados de galinhas  
 938 poedeiras de acordo com os tratamentos

TRAT	Antibiograma							
	Classe							
	Penicilina	Quinolona	Macrolídeo	Aminoglicosídeo	Lincosamida	Tetraciclina	Polipeptídico	
	AMP	CIP	ERI	GEN	NEO	LIN	TET	BAC
RMS	S	S	S	I	S	R	S	S
FCO	R	S	S	S	S	R	S	S
BAC	R	I	R	R	R	R	R	R
SIMC	S	S	S	S	S	S	S	S
SIMR	S	S	S	S	S	S	S	S
SIMP	S	I	S	S	I	I	S	S

939 Status de susceptibilidade do antibiótico: S= sensível; I= intermediário; R= resistente

## 940 **Discussão**

### 941 **Hematologia e bioquímica das aves**

942 A ausência de efeito dos tratamentos sobre o eritrograma no presente estudo corrobora  
 943 com os resultados encontrados por Al-Khalaifa et al., (2019), que mostrou que a utilização de  
 944 prebióticos (FOS e MOS) e probióticos (*Bacillus*, *Lactobacillus* e *Sacharomyces cerevisiae*) na  
 945 alimentação de frangos de corte não tiveram efeito sobre os valores médios de hemácias,  
 946 hemoglobinas, hematócrito, volume corpuscular médio, concentração da hemoglobina  
 947 corpuscular média e proteínas plasmáticas totais. E o mesmo foi encontrado em um estudo com  
 948 galinhas poedeiras de 36 a 52 semanas de idade que se alimentaram com aditivo simbiótico  
 949 (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus*  
 950 *faecium* e *Aspergillus oryzae* e isomalto-oligassacarídeo), em estudo realizado por Tang et al.,  
 951 (2017), no qual os autores afirmam que esses resultados confirmam que o simbiótico não afeta  
 952 a homeostase sanguínea e conseqüentemente é benéfico para o balanço eletrolítico e para a  
 953 morfologia e função dos eritrócitos e leucócitos .

954 A inclusão do aditivo simbiótico resultou em um maior número de linfócitos, eosinófilos  
955 e trombócitos. Nas aves, os linfócitos, eosinófilos e trombócitos são células bastante  
956 importantes na resistência imunológica e fagocitária, tendo em vista que são células que  
957 circulam em grande número pela corrente sanguínea, podendo desencadear mudanças na sua  
958 morfologia e quantidade, que podem servir como indicadores do status de saúde do animal  
959 (GRECCHI; SALIBA; MARIANO, 1980; MACARI; FURLAN; GONZALES, 2002;  
960 THRALL et al., 2015).

961 Yazdi et al. (2014) associaram a redução dos números de linfócitos em aves com a  
962 redução da imunidade. Já Sunu et al. (2021) identificaram o aumento de eosinófilos ao incluir  
963 simbiótico (*Allium sativum* e *Lactobacillus acidophilus*) na dieta de frangos de corte e afirmam  
964 que uma alta produção de eosinófilos mostra o bom funcionamento do sistema imunológico  
965 animal.

966 Apesar de não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ), os números de trombócitos foram  
967 maiores nas aves que foram alimentadas com dieta suplementada com simbiótico ( $p < 0,1326$ ;  
968  $0,1426$  e  $0,0730$ ; para o C4, C5 e C6, respectivamente). Os trombócitos participam do processo  
969 de hemostasia, atuam nos mecanismos de defesa orgânica, isso é demonstrado por sua  
970 participação no processo de coagulação e processos inflamatórios, bem como por sua atividade  
971 fagocítica durante infecções (TAVARES DIAS, 2003), e o simbiótico pode aumentar atividade  
972 fagocítica, mesmo não havendo uma inflamação evidente, assim, atuando sobre o sistema  
973 imune das aves.

974 Os mecanismos sobre como a bacitracina utilizada de forma contínua atua na redução  
975 dos trombócitos ainda são desconhecidos.

976 Em galinhas poedeiras, o ácido úrico é o principal metabólito do nitrogênio, produzido  
977 nos rins e no fígado. Sendo esse componente excretado particularmente por meio de secreção  
978 tubular, a diminuição da taxa de filtração glomerular causada pela desidratação pode resultar  
979 em estagnação do movimento de ácido úrico através dos túbulos renais (THRALL et al., 2015).

980 Foi evidenciado que a concentração de ácido úrico no presente estudo se mostrou menor  
981 nos tratamentos com aditivo simbiótico em comparação com o tratamento com antibiótico. Em  
982 um estudo realizado por Li et al. (2007), na utilização de dieta à base de probiótico (*Bacillus*  
983 *subtilis*) para patos, proporcionou uma redução na concentração do ácido úrico sérico. Os  
984 autores evidenciaram que o probiótico reduziu bactérias que produzem urease e que este fator  
985 poderia estar associado à redução da concentração de ácido úrico sanguíneo. Ainda Sugiharto  
986 et al. (2018) utilizaram produto probiótico composto por diferentes cepas de *Bacillus* e  
987 observaram resultados semelhantes. De acordo com Chauhan et al. (2020) os microrganismos

988 probióticos têm a capacidade de usar ácido úrico e outros produtos químicos tóxicos como os  
989 seus nutrientes para o seu crescimento. Esta pode ser a razão para o baixo nível de URI no  
990 presente estudo. Assim, a diminuição significativa do nível de ácido úrico nos grupos tratados  
991 com simbiótico pode indicar efeito benéfico do probiótico sobre a função renal (HATAB;  
992 ELSAYED; IBRAHIM, 2016).

993 A maioria das proteínas plasmáticas é sintetizada pelo fígado, com exceção das  
994 imunoglobulinas. As principais funções destes componentes são sustentar o volume sanguíneo  
995 por meio do equilíbrio osmótico coloidal e auxiliar na preservação do pH sanguíneo, tendo em  
996 vista que possuem capacidade tampão e fazem o transporte de metabólitos e hormônios e ação  
997 regulatório e catalítica de processos biológicos. Algumas dessas PT são imprescindíveis nas  
998 reações imunoinflamatórias e nos processos de reestruturação e restauração tecidual (MELILLO,  
999 2013).

1000 No presente estudo, as dietas que continham o aditivo simbiótico resultaram uma menor  
1001 atividade de proteínas plasmáticas, discordando de estudos prévios que utilizaram probióticos  
1002 ou prebióticos em aves (RASHIDI et al., 2020; SUGIHARTO et al., 2018; XU et al., 2020).  
1003 Por outro lado, Shende et al. (2021) relataram resultados semelhantes observados neste estudo  
1004 ao utilizar composto simbiótico (MOS, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*,  
1005 *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum*) na alimentação de  
1006 frangos corte, entretanto, não apresentaram justificativas para a redução das proteínas totais ao  
1007 utilizar o aditivo.

1008 Dessa forma, de acordo com Khabirov et al. (2020), a AST é uma enzima envolvida no  
1009 metabolismo de proteínas, desempenhando funções importantes, como a participação na síntese  
1010 das membranas celulares e de aminoácidos. A atividade mais elevada de AST encontra-se no  
1011 coração, fígado, rins, músculos e tecido nervoso. Isto se deve ao fato de que os processos  
1012 metabólicos nestes tecidos são mais ativos e as células precisam estar em constante  
1013 funcionamento para manter a sua estrutura. Assim que as células destes órgãos começam  
1014 decompor-se, a enzima é ativamente liberada para o sangue e o seu nível aumenta, assim como  
1015 os níveis de proteínas totais. Neste estudo evidenciou-se que o aditivo simbiótico conseguiu  
1016 manter uma maior integridade tecidual reduzindo as concentrações de AST em comparação  
1017 com o antibiótico, proporcionando uma menor concentração de PT nos tratamentos com  
1018 simbiótico, trazendo a hipótese de que a utilização contínua do antibiótico e em longo prazo  
1019 pode trazer danos tissulares.

1020 A presença de enzimas séricas e a sua quantidade no soro podem fornecer algumas  
1021 indicações sobre o grau de danos em órgãos ou tecidos. A concentração sérica de enzimas

1022 hepáticas, tais como AST e ALT, pode ser usada para avaliar a função hepática aviária porque  
1023 a sua síntese ocorre no fígado (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). No presente estudo, foi  
1024 demonstrado que poedeiras alimentadas com simbiótico obtiveram menor atividade de AST e  
1025 ALT, caracterizada por uma boa condição hepática dessas aves. O mesmo resultado foi  
1026 observado por Tang et al. (2017) ao inserir probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação  
1027 de galinhas poedeiras de 20 a 52 semanas de idade.

1028 Em um estudo realizado por Attia et al. (2015) com coelhos, utilizando continuamente  
1029 o MOS e Bacitracina de Zinco na alimentação, observaram aumento das enzimas hepáticas  
1030 (AST e ALT) para o uso contínuo do antibiótico em comparação com o prebiótico, foi  
1031 comprovado por achados histológicos que a administração contínua da bacitracina de zinco  
1032 trouxe efeitos deletérios sobre o fígado, rim e íleo, que foram revelados por meio da observação  
1033 de dilatação multifocal no tecido hepático e atrofia dos túbulos renais. Resultado similar pode  
1034 ter sido constatado no presente estudo, quando foi observado maior atividade das enzimas AST  
1035 e ALT no tratamento com a bacitracina de zinco utilizada na alimentação das aves desde a fase  
1036 de cria.

1037 Em aves saudáveis, a atividade de LDH no plasma é inferior a 1.000 UI/L e o seu aumento  
1038 está associado à doença hepatocelular ou lesão muscular. Porém, para definir esse diagnóstico,  
1039 é necessário observar as concentrações das enzimas CK, AST e ALT (THRALL et al., 2015).  
1040 No presente estudo, as aves alimentadas com FCO apresentaram uma concentração anormal de  
1041 LDH (1154,18 UI/L), porém, as outras enzimas do mesmo tratamento se encontravam estáveis  
1042 para predizermos que as aves estavam submetidas a uma lesão muscular ou hepatocelular.  
1043 Nessa mesma variável, houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre o tratamento com simbiótico na recria  
1044 em comparação ao tratamento com bacitracina, mesmo não havendo diferença nos outros  
1045 contrastes com simbiótico versus bacitracina de zinco ( $p < 0,3943$ ,  $0,0790$ , C3 e C5  
1046 respectivamente), constando, assim, uma redução do LDH ao empregar o aditivo simbiótico na  
1047 dieta das poedeiras. Michalska et al. (2021) avaliaram a utilização de probióticos em codornas  
1048 desafiadas por *Clostridium perfringens* e observaram que o aditivo reduziu as concentrações de  
1049 LDH e reduziu lesões provocadas pelo desafio, e que o principal motivo para a redução desses  
1050 componentes seria a atuação do probiótico com efeito anti-inflamatório e hepatoprotetor.

1051 O teor plasmático de fósforo é controlado principalmente pela excreção renal,  
1052 estimulada pelo paratormônio. Em aves, considera-se um caso de hiperfosfatemia quando a  
1053 concentração sérica de fósforo é superior 7,0 mg/dl (THRALL, 2015). É evidenciado no  
1054 presente trabalho que as concentrações de fósforo no tratamento com antibiótico se encontram  
1055 acima (11,45 mg/dL) do valor normal. De acordo com Thrall (2015), tal irregularidade pode

1056 ser vista em casos de doença renal grave, por causa da menor taxa de filtração glomerular. E  
1057 anteriormente já vimos que a bacitracina de zinco utilizada em longo prazo pode afetar as  
1058 funções renais, chegando a causar lesões ao órgão. No presente estudo, as aves possuíam 90  
1059 semanas de idade e as do tratamento BAC recebiam o antibiótico como aditivo desde um dia  
1060 de idade, verificando que os níveis de enzimas, como AST, ALT e ácido úrico, estão altos,  
1061 destacando uma possível hepato-toxicidade pela administração contínua, porém, as aves que  
1062 recebiam simbióticos mantiveram melhores níveis dessas respectivas enzimas, destacando  
1063 assim uma melhor condição hepática.

1064 O HDL ou lipoproteínas de alta densidade conhecidas como “colesterol bom” tem como  
1065 função remover o colesterol das artérias e o levar de volta para o fígado, impossibilitando seu  
1066 acúmulo (ALVARENGA et al., 2011). A inclusão do aditivo simbiótico aumentou as  
1067 concentrações de HDL corroborando com estudo realizado por Tang et.al (2017), onde a  
1068 inclusão de simbiótico aumentou significativamente a concentração de HDL de galinhas  
1069 poedeiras. E mesmo não havendo diferença significativa para a concentração de colesterol entre  
1070 os tratamentos com aditivos (exceto o SIMP), consta-se que, ao aumentar o HDL sérico, ocorre  
1071 a redução do colesterol, confirmando a teoria de Alvarenga et.al, (2011).

1072 Os resultados deste estudo indicam que os probióticos tem uma ação  
1073 hipocolesterolêmica sobre o animal hospedeiro. No entanto, essa ação por probióticos não foi  
1074 bem esclarecida e vários mecanismos são hipotetizados, como a utilização do colesterol por  
1075 probióticos (GILLILAND; NELSON; MAXWELL, 1985); a inibição de hidroximetilglutaril  
1076 coenzima A redutase por probióticos, uma enzima que está ligada à rota de sintetização do  
1077 colesterol (FUKUSHIMA; NAKANO, 1995), e a conversão de colesterol ao coprostanol pela  
1078 enzima colesterol redutase, que é produzida por probióticos (OOI; LIONG, 2010)

1079 Nota-se que o tratamento com bacitracina de zinco apresentou maior concentração de  
1080 colesterol, e esses dados discordam de um estudo realizado por Ogboko (2011), que utilizou  
1081 de bacitracina de zinco na alimentação de frangos de corte e observou a redução do teor de  
1082 colesterol sérico, porém, como frangos de corte possuem ciclo de produção curto, não podemos  
1083 considerar essa redução como efeito de longo prazo. Como já relatado anteriormente, o uso  
1084 contínuo de bacitracina de zinco pode perturbar as funções renais e hepáticas, e isso pode ter  
1085 ocasionado um problema na utilização e na mobilização do colesterol nesse tratamento.

1086

### 1087 **Avaliação de órgãos**

1088 O fígado das aves está envolvido em uma série de funções metabólicas e homeostáticas,  
1089 sendo um órgão responsável pela maioria dos processos de síntese, metabolismo, excreção e

1090 desintoxicação, representando um papel importante na digestão e metabolismo, estabilizando a  
1091 produção, retenção e liberação de carboidratos, proteínas e lipídeos (DENBOW, 2015).

1092 No presente estudo, foi observado que o peso relativo dos fígados (Tabela 6) de aves  
1093 alimentadas com simbiótico foi maior quando comparado com as aves alimentadas com  
1094 antibiótico, e esses dados estão de acordo com estudos prévios que utilizaram probiótico e  
1095 obtiveram o mesmo comportamento sobre o peso do fígado (REUBEN et al., 2021; WANG et  
1096 al., 2015; YU et al., 2020).

1097 A compreensão sobre a correlação entre a utilização do simbiótico e aumento do fígado  
1098 ainda não é bem elucidada, porém, um estudo realizado por Sharma, Bhardwaj e Singh (2016)  
1099 verificaram que, ao administrar probióticos (*Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum*)  
1100 para ratos, houve um aumento no glicogênio do fígado, e esta seria uma possível explicação  
1101 para o maior crescimento do órgão.

1102 Observando o peso relativo do fígado das aves tratadas com antibiótico, viu-se uma  
1103 redução significativa comparada aos tratamentos com simbiótico, e confirmamos os achados de  
1104 Attia et.al (2015), onde o fígado de coelhos tratados continuamente com bacitracina de zinco  
1105 apresentaram congestão sinusoidal, acarretando na atrofia do fígado.

1106 Ao correlacionarmos a atividade de enzimas hepáticas (Tabela 5) com o tamanho do  
1107 fígado (Tabela 7), observa-se alterações nos valores de AST e ALT das aves do tratamento com  
1108 bacitracina de zinco, que foi caracterizado por uma maior atividade dessas enzimas acarretando  
1109 um possível dano hepático, que pode ter ocasionado na redução do fígado, e também se  
1110 observou melhores condições dessas enzimas para as aves dos grupos com simbiótico,  
1111 caracterizando fígados maiores, possivelmente não atrofiados e saudáveis.

1112 No presente estudo, foi observado que aves que consumiram dieta à base apenas de  
1113 milho e soja obtiveram um maior peso relativo de pâncreas significativo ( $p > 0,05$ ) no C2 (FCO  
1114 vs BAC) e numericamente maior em relação aos outros tratamentos. Este achado está em  
1115 concordância com estudo realizado por Awad et al. (2009), onde o pâncreas de frangos de corte  
1116 apresentou maior peso relativo comparado com o tratamento com simbiótico (*E. faecium*,  
1117 *Lactobacillus* e prebiótico derivado de chicória). Ainda de acordo com um estudo realizado por  
1118 Matur et al. (2010), a suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* para frangos de corte  
1119 aumentou a atividade da enzima alfa amilase no pâncreas, o aumento da atividade pancreática  
1120 pode ocasionar na redução do órgão, o que pode ser uma justificativa para o resultado do  
1121 presente estudo.

1122 Referente ao comprimento dos órgãos (Tabela 8), foi observado que a dieta contendo  
1123 farinha de carne e ossos resultou em maior comprimento de ceco. Farinhas de carne e ossos



1124 muitas vezes são tratadas com ácidos orgânicos e esses compostos além de trazerem benefícios  
1125 para a qualidade físico-química do ingrediente podem trazer melhorias para a saúde do animal  
1126 (WALES; ALLEN; DAVIES, 2010). De acordo com Svihus et al. (2013), os ácidos orgânicos  
1127 aumentam a fermentação no ceco, conseqüentemente fazendo com que haja um maior  
1128 comprimento deste órgão, sendo uma provável explicação para o resultado no presente estudo.

1129 Ao avaliar o pH do conteúdo digestivo, observou-se que o simbiótico inserido desde a  
1130 fase de recria e início de produção proporcionou uma maior acidificação do papo das galinhas  
1131 poedeiras, resultado está de acordo com o estudo de Bouassi et al. (2021), que utilizaram um  
1132 probiótico a base de *Lactobacillus spp.* para poedeiras que, além de reduzir o pH do papo,  
1133 reduziu bactérias patogênicas, como coliformes totais e *E.coli*, e aumentou *Lactobacillus spp.*  
1134 no íleo e ceco. Nas aves, as bactérias patogênicas atingem o trato gastrointestinal após  
1135 ultrapassar do papo. É importante ter um papo com pH baixo para prevenir ou diminuir a  
1136 colonização por agentes patogênicos no trato digestivo (HINTON; BUHR; INGRAM, 2000).

1137 No pH, o tratamento SIMP se mostrou quase neutro em comparação com o tratamento  
1138 com antibiótico no conteúdo cecal, e isso pode ter sido influenciado pela administração tardia  
1139 do simbiótico, tendo em vista que esse pH mais neutro pode influenciar diretamente a  
1140 colonização de bactérias patogênicas, como *Clostridium perfringens*, que tem como pH ótimo  
1141 para crescimento uma faixa de 6,0-7,0 (LABBÉ, 1991).

1142

### 1143 **Histomorfologia intestinal**

1144 Parâmetros morfológicos, tais como comprimento das vilosidades, profundidade da  
1145 cripta, proporção vilosidade/criptas e área de das vilosidades, são normalmente utilizados para  
1146 investigar os efeitos dos microrganismos na morfologia intestinal. Estes parâmetros,  
1147 especialmente a área de vilosidades, foi positivamente relacionado à eficiência de absorção do  
1148 intestino delgado em aves de produção (MATUR; ERASL, 2012).

1149 Um suplemento simbiótico é utilizado principalmente para garantir uma boa capacidade  
1150 de sobrevivência das bactérias probióticas no trato digestivo através do seu substrato prebiótico.  
1151 Sem uma fonte de alimentos tão vital para a microbiota probiótica, ocorreria a diminuição da  
1152 intolerância para a temperatura intestinal, oxigênio e baixo pH (SEKHON; JAIRATH, 2010).  
1153 Os resultados no presente estudo mostraram que suplementar poedeiras com simbiótico  
1154 independente da fase resultou em melhorias na histomorfometria do duodeno, jejuno e íleo. E  
1155 esses dados corroboram com Abdelqader et al. (2013), que utilizaram aditivo simbiótico  
1156 composto por *Bacillus subtilis* e inulina e obtiveram uma melhoria na histomorfometria do

1157 intestino delgado de poedeiras em fase final, como no presente estudo. E, de acordo com o  
1158 mesmo estudo, a colonização da microbiota benéfica, juntamente com o aumento da área de  
1159 absorção de vilosidades, está diretamente associada às melhorias no desempenho e na qualidade  
1160 dos ovos.

1161 Os probióticos usados no presente estudo podem desempenhar ação sobre a saúde  
1162 intestinal não apenas por mecanismos de exclusão competitiva, mas também pela produção de  
1163 substâncias antimicrobianas, que são citotóxicas para as bactérias patogênicas, o que reduz os  
1164 sinais ligados a infecções intestinais, como a redução da área de absorção (*Lactobacillus*  
1165 *acidophilus* e *Bacillus subtilis*) (GRANT; GAY; LILLEHOJ, 2018; LI et al., 2018), a inibição  
1166 do crescimento de bactérias patogênicas devido à produção de ácidos graxos de cadeia curta  
1167 como acetato e lactato, além de promover a saúde do hospedeiro, estimula o desenvolvimento  
1168 das vilosidades intestinais e área de absorção( *Bifidobacterium bifidum*) (ABD EL-HACK et  
1169 al., 2020), aumentando o número de células caliciformes e conseqüentemente a produção de  
1170 muco, que desencadeia uma maior proteção da mucosa intestinal, contribuindo para uma melhor  
1171 saúde do TGI (*Sacharomyces cerevisiae*) (POLONI et al., 2020), e a modulação da microbiota  
1172 pode resultar em maior área de absorção e desempenho de aves (*Enterococcus*  
1173 *faecium*)(CASTAÑEDA et al., 2020).

1174

#### 1175 **Contagem e antibiograma do *Clostridium perfringens***

1176 No presente trabalho, foi observado que a administração de simbiótico desde a fase de  
1177 cria e recria obtiveram uma menor contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/g) de  
1178 *Clostridium perfringens* (Tabela 13). Abdelqader et al., (2013) mostraram que a utilização de  
1179 um simbiótico composto por *Bacillus subtilis* e inulina reduziu a contagem de *Clostridium*  
1180 *perfringens* do conteúdo cecal de galinhas poedeiras.

1181 O pH do conteúdo cecal do tratamento SIMP pode estar correlacionado com maior  
1182 contagem de *C. perfringens*, tendo em vista que o pH está dentro do ideal para o crescimento  
1183 da bactéria. E também a possível presença de ácidos orgânicos ou PNA's pode ter atuado de  
1184 certa forma positiva sobre o número de colônias no tratamento FCO, se observa ainda que a  
1185 utilização do antibiótico a longo prazo causou um maior número de colônias e desenvolvimento  
1186 de multirresistência do *C.perfringens*.

1187 Os efeitos benéficos da fermentação bacteriana estão envolvidos na modulação da  
1188 microbiota intestinal, que conseqüentemente promove o crescimento dos microrganismos  
1189 benéficos e a produção pós-bióticos benéficos respectivamente como bactérias do gênero

1190 *Bifidobacterium spp.* e o ácido láctico, que pode inibir o crescimento de *Salmonella*,  
1191 *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (CUMMINGS e MACFARLANE, 2002).

1192 O uso de antibióticos aumenta de forma potencial a resistência microbiana em  
1193 animais (PAL et al., 2016). O desenvolvimento de bactérias resistentes que estão ligadas a  
1194 doenças e à crescente gama de genes de resistência a antibióticos em bactérias tem sido causa  
1195 de preocupação, e pesquisas com este intuito são de grande importância para entender a  
1196 prevalência e a dinâmica dos microrganismos resistentes no setor avícola (ROTH et al., 2019).

1197 Estudos que relacionam a utilização de aditivos, principalmente simbióticos, com a  
1198 resistência de bactérias isoladas de aves são escassos, e atualmente apenas um foi evidenciado,  
1199 no qual se avaliava prevalência de *E.coli* resistente a antibióticos em frangos de corte desafiados  
1200 com uma cepa multirresistente de *E.coli* e alimentados com ampicilina, um ácido orgânico e  
1201 simbiótico (ROTH et al., 2019), não sendo identificada nenhuma pesquisa com o mesmo  
1202 objetivo relacionado à *Clostridium perfringens* em galinhas poedeiras ou frango de corte.  
1203 Baseado nisso, a maioria dos estudos onde houve o isolamento em galinhas poedeiras e  
1204 avaliação do perfil de resistência do *C.perfringens* concentra-se em pesquisas de campo em  
1205 fazendas avícolas justifica a resistência dessa bactéria ligada ao uso indiscriminado de  
1206 antibióticos na nutrição das aves (ACHAKZAI; TAJ; ACHAKZAI, 2020; LI et al., 2021; XU  
1207 et al., 2021).

1208 A pesquisa desenvolvida demonstra que o simbiótico, independente da fase que foi  
1209 inserido, mostrou efeito benéfico sobre a susceptibilidade do *C. perfringens* a diversos  
1210 antibióticos. E, de acordo com XU et al. (2021), ao inserir probióticos na alimentação animal,  
1211 o aditivo atua com os mecanismos de exclusão competitiva, produção de bacteriocinas, reforço  
1212 da estrutura intestinal e aprimora as funções imunológicas e o equilíbrio do trânsito intestinal,  
1213 exercendo uma menor pressão seletiva comparada a antibióticos, podendo não contribuir ou até  
1214 mesmo reduzir a resistência de bactérias potencialmente patogênicas.

1215 Foi observado em um estudo de Sáenz et.al (2019), que comparava o uso de antibiótico  
1216 de amplo espectro sobre a diversidade da microbiota intestinal, sobre os genes de resistência  
1217 microbiana e elementos genéticos móveis na microbiota de peixes, que, além da dominância  
1218 de comunidades patogênicas de bactérias, e mecanismos de resistência, o efluxo de antibiótico  
1219 foi caracterizado para a microbiota que recebeu o antibiótico e se correlacionou positivamente  
1220 com a transferência de resistência por elementos genéticos móveis, além disso, depois de cessar  
1221 o uso do antibióticos, esses efeitos foram reduzidos. No presente estudo, como a bacitracina foi  
1222 utilizada de forma contínua, os efeitos de transferência de genes por elementos genéticos

1223 móveis podem ter sido mais evidentes, em especial pela pressão seletiva causada pelo  
1224 antibiótico.

1225 *Clostridium perfringens* é uma bactéria comensal em aves e tem uma prevalência maior  
1226 no ceco (IMMERSEEL et al., 2004). O *C. perfringens* pode ser frequentemente submetido a  
1227 pressões seletivas impostas por tratamentos com antibióticos, que podem contribuir  
1228 consideravelmente para a disseminação da resistência a esses compostos (KHADEMI;  
1229 SAHEBKAR, 2019). Estudos já comprovam a resistência do *C. perfringens* isolados de aves a  
1230 aminoglicosídeos, polipeptídicos (ACHAKZAI; TAJ; ACHAKZAI, 2020), eritromicina,  
1231 tetraciclina, lincomicina, bacitracina (MWANGI et al., 2019) e ampicilina (JANG et al., 2020).  
1232 Desde o primeiro trabalho realizado no Brasil sobre suscetibilidade antimicrobiana de cepas de  
1233 *Clostridium perfringens* isoladas em aves, já foi identificada a resistência a bacitracina (SILVA  
1234 et al., 2009). E atualmente são identificados genes do *Clostridium perfringens*, inerentes a  
1235 plasmídeos de resistência como o gene pCW3, que estão ligados à resistência do *C. perfringens*,  
1236 à tetraciclina e à bacitracina, que podem ser modificadas e atuar sobre a resistência a outros  
1237 antibióticos (ADAMS et al., 2018; HAN et al., 2015).

1238 E, ao verificar o pH e correlacionar com a colonização do ceco pela bactéria, constata-  
1239 se que inserir o simbiótico em uma fase precoce ou tardia pode interferir no perfil de  
1240 susceptibilidade de *C. perfringens* a antibióticos isolados do ceco das galinhas poedeiras, como  
1241 constata no presente estudo que, ao inserir o simbiótico só a partir da fase de postura, há uma  
1242 maior colonização da bactéria, que passam a ter perfil intermediário diante de alguns  
1243 antibióticos. Não há estudos que evidenciem a relação entre o tempo de inserção de um  
1244 simbiótico na alimentação animal sobre a resistência bacteriana, sendo este o primeiro que  
1245 avalia este aspecto. Sendo assim, mais estudos são necessários para de fato averiguar a  
1246 influência do tempo de inserção de um simbiótico sobre a pressão que é causada à resistência  
1247 bacteriana ou para confirmar se uma microbiota preestabelecida tem menor atuação do  
1248 simbiótico sobre a redução e susceptibilidade de *Clostridium perfringens*.

1249 **5 CONCLUSÃO**

1250

1251 O simbiótico se destaca como um bom substituto da bacitracina de zinco, pois  
1252 proporciona melhor estado hemato-bioquímico, saúde dos órgãos, melhora as condições  
1253 histomorfométricas do intestino delgado e reduz a colonização de *Clostridium perfringens* e  
1254 sua resistência a diversos antibióticos. E, considerando o conjunto de dados obtidos, a fase de  
1255 recria seria o melhor momento para inserção do simbiótico para manter poedeiras saudáveis até  
1256 as 90 semanas de idade.

1257 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1258 ABD EL-HACK, M. E. et al. Improving productive performance and mitigating harmful  
1259 emissions from laying hen excreta via feeding on graded levels of corn DDGS with or without  
1260 *Bacillus subtilis* probiotic. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 101, n.  
1261 5, p. 904–913, out. 2017.
- 1262 ABD EL-HACK, M. E. et al. Herbs as thermoregulatory agents in poultry: An overview.  
1263 **Science of The Total Environment**, v. 703, p. 134399, fev. 2020.
- 1264 ABD EL-HACK, M. E. et al. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. **Journal of**  
1265 **Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1835–1850, 29 nov. 2020.
- 1266 ABDEL-LATIF, M. A. et al. Quercetin Dietary Supplementation Advances Growth  
1267 Performance, Gut Microbiota, and Intestinal mRNA Expression Genes in Broiler Chickens.  
1268 **Animals**, v. 11, n. 8, p. 2302, 4 ago. 2021.
- 1269 ABDELQADER, A.; AL-FATAFTAH, A.-R.; DAŞ, G. Effects of dietary *Bacillus subtilis* and  
1270 inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology and microflora  
1271 composition of laying hens in the late phase of production. **Animal Feed Science and**  
1272 **Technology**, v. 179, n. 1–4, p. 103–111, jan. 2013.
- 1273 ACHAKZAI, R.; TAJ, M. K.; ACHAKZAI, K. B. Microbiological Studies on *Clostridium*  
1274 *perfringens* Isolated from Commercial Poultry of Balochistan. **Asian Journal of Biological**  
1275 **and Life Sciences**, v. 9, n. 2, p. 204–208, 1 set. 2020.
- 1276 ADAMS, V. et al. Antibiotic resistance plasmids and mobile genetic elements of *Clostridium*  
1277 *perfringens*. **Plasmid**, v. 99, p. 32–39, set. 2018.
- 1278 ALAGAWANY, M. et al. Individual and combined effects of crude protein, methionine, and  
1279 probiotic levels on laying hen productive performance and nitrogen pollution in the manure.  
1280 **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 22, p. 22906–22913, 30 nov. 2016.
- 1281 ALAGAWANY, M. et al. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in  
1282 poultry nutrition. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 11, p. 10611–  
1283 10618, 12 abr. 2018.
- 1284 ALAYANDE, K. A.; AIYEGORO, O. A.; ATEBA, C. N. Probiotics in Animal Husbandry:  
1285 Applicability and Associated Risk Factors. **Sustainability**, v. 12, n. 3, p. 1087, 4 fev. 2020.
- 1286 ALI, M.; ISLAM, E.; GIASUDDIN, M. Outbreak investigation, molecular detection, and  
1287 characterization of foot and mouth disease virus in the Southern part of Bangladesh. **Journal**  
1288 **of Advanced Veterinary and Animal Research**, v. 6, n. 3, p. 346, 2019.
- 1289 AL-KHALAIFA, H. et al. Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of  
1290 broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 4465–4479, out. 2019.
- 1291 AL-ASMAKH, Maha; ZADJALI, Fahad. Use of Germ-Free Animal Models in Microbiota-  
1292 Related Research. **Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 25, n. 10, p. 1583-  
1293 1588, 28 out. 2015.

- 1294 ALLAART, J. G. et al. NetB-producing and beta2-producing *Clostridium perfringens*  
1295 associated with subclinical necrotic enteritis in laying hens in the Netherlands. **Avian**  
1296 **Pathology**, v. 41, n. 6, p. 541–546, 28 dez. 2012.
- 1297 ALVARENGA, R. R. et al. Lipoprotein metabolism in poultry. **World's Poultry Science**  
1298 **Journal**, v. 67, n. 3, p. 431–440, 1 set. 2011.
- 1299 ANWAR, M. I. et al. A review of  $\beta$ -glucans as a growth promoter and antibiotic alternative  
1300 against enteric pathogens in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 3, p. 651–  
1301 661, 1 set. 2017.
- 1302 ARIF, M. et al. The Biodegradation Role of *Saccharomyces cerevisiae* against Harmful Effects  
1303 of Mycotoxin Contaminated Diets on Broiler Performance, Immunity Status, and Carcass  
1304 characteristics. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 238, 3 fev. 2020.
- 1305 ASHOUR, E. A. et al. Effect of Dietary Supplementation with *Moringa oleifera* Leaves and/or  
1306 Seeds Powder on Production, Egg Characteristics, Hatchability and Blood Chemistry of Laying  
1307 Japanese Quails. **Sustainability**, v. 12, n. 6, p. 2463, 20 mar. 2020.
- 1308 ATTIA, Y. A. et al. Performance, blood profile, carcass and meat traits and tissue morphology  
1309 in growing rabbits fed mannanoligosaccharides and zinc-bacitracin continuously or  
1310 intermittently. **Animal Science Papers and Reports**, v. 33, n. 1, p. 85–101, 2015.
- 1311 AWAD, W. A. et al. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth  
1312 performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry**  
1313 **Science**, v. 88, n. 1, p. 49–56, jan. 2009.
- 1314 AWAD, W. A. et al. Age-Related Differences in the Luminal and Mucosa-Associated Gut  
1315 Microbiome of Broiler Chickens and Shifts Associated with *Campylobacter jejuni* Infection.  
1316 **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, 22 nov. 2016.
- 1317 BALLOU, A. L. et al. Development of the Chick Microbiome: How Early Exposure Influences  
1318 Future Microbial Diversity. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 3, 20 jan. 2016.
- 1319 BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.  
1320 **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4, p. 493–6, abr. 1966.
- 1321 BEDFORD, M. R. Effect of non-starch polysaccharidases on avian gastrointestinal function.  
1322 In: **Avian gut function in health and disease**. Wallingford: CABI, 2006. p. 159–170.
- 1323 BIGGS, P.; PARSONS, C. M.; FAHEY, G. C. The Effects of Several Oligosaccharides on  
1324 Growth Performance, Nutrient Digestibilities, and Cecal Microbial Populations in Young  
1325 Chicks. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2327–2336, nov. 2007.
- 1326 BIN-JUMAH, M. et al. Potential use of chromium to combat thermal stress in animals: A  
1327 review. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 135996, mar. 2020.
- 1328 BOGUSŁAWSKA-TRYK, M. et al. Modulation of Intestinal Histology by Probiotics,  
1329 Prebiotics and Synbiotics Delivered In Ovo in Distinct Chicken Genotypes. **Animals**, v. 11, n.  
1330 11, p. 3293, 18 nov. 2021.
- 1331 BORDA-MOLINA, D. et al. Insights into Broilers' Gut Microbiota Fed with Phosphorus,  
1332 Calcium, and Phytase Supplemented Diets. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 19 dez. 2016.

- 1333 BOUASSI, T. et al. Supplementation with liquid whey and ACIDAL® ML in drinking water  
1334 affect gut pH and microflora and productive performance in laying hens. **British Poultry**  
1335 **Science**, v. 62, n. 1, p. 138–146, 2 jan. 2021.
- 1336 BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26**  
1337 **de agosto de 2003**. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle  
1338 de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, de 18/09/2003, 2003.
- 1339 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa  
1340 Agropecuária. **Instrução Normativa nº 1, de 13 de janeiro de 2020**: Proibição em território  
1341 nacional de aditivos melhoradores de desempenho que contenham antimicrobianos  
1342 classificados como importantes na medicina humana. Brasília, 2020.
- 1343 BROWN, G. D. et al. Dectin-1 Mediates the Biological Effects of  $\beta$ -Glucans. **Journal of**  
1344 **Experimental Medicine**, v. 197, n. 9, p. 1119–1124, 5 maio 2003.
- 1345 CARUSO, G. Antibiotic Resistance in Escherichia coli from Farm Livestock and Related  
1346 Analytical Methods: A Review. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 101, n. 4, p. 916–  
1347 922, 1 jul. 2018.
- 1348 CASTAÑEDA, C. D. et al. In ovo inoculation of an Enterococcus faecium–based product to  
1349 enhance broiler hatchability, live performance, and intestinal morphology. **Poultry Science**, v.  
1350 99, n. 11, p. 6163–6172, nov. 2020.
- 1351 CHANGXING, L. et al. Heracleum persicum : chemical composition, biological activities and  
1352 potential uses in poultry nutrition. **World’s Poultry Science Journal**, v. 75, n. 2, p. 207–218,  
1353 1 jun. 2019.
- 1354 CHAUHAN, S. S. et al. Studies on Serum Mineral Profile and Kidney Function of Broiler  
1355 Chickens Fed Diets Containing Different Supplements. **Indian Journal of Animal Research**,  
1356 n. Of, 13 mar. 2020.
- 1357 CHLEBICZ, A.; ŚLIŻEWSKA, K. In Vitro Detoxification of Aflatoxin B1, Deoxynivalenol,  
1358 Fumonisin, T-2 Toxin and Zearalenone by Probiotic Bacteria from Genus Lactobacillus and  
1359 Saccharomyces cerevisiae Yeast. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 1, p. 289–  
1360 301, 5 mar. 2020.
- 1361 CHRISTOFOLI, M. et al. Microbiota intestinal benéfica e prejudicial na avicultura: Revisão.  
1362 **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e43973667, 27 abr. 2020.
- 1363 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for**  
1364 **Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-first Informational Supplement**. Wayne,  
1365 PAACLSI, , 2014.
- 1366 CUI, Y. et al. Age-Related Variations in Intestinal Microflora of Free-Range and Caged Hens.  
1367 **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 11 jul. 2017.
- 1368 DE MAESSCHALCK, C. et al. Effects of Xylo-Oligosaccharides on Broiler Chicken  
1369 Performance and Microbiota. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 17, p.  
1370 5880–5888, set. 2015.
- 1371 DENBOW, D. M. Gastrointestinal Anatomy and Physiology. In: **Sturkie’s Avian Physiology**.  
1372 [s.l.] Elsevier, 2015. p. 337–366.



- 1373 DENG, Q. et al. Dietary Lactic Acid Bacteria Modulate Yolk Components and Cholesterol  
1374 Metabolism by Hmgr Pathway in Laying Hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 22,  
1375 n. 3, 2020.
- 1376 DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode  
1377 of action. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 634–643, abr. 2005.
- 1378 DING, S. et al. The impact of probiotics on gut health via alternation of immune status of  
1379 monogastric animals. **Animal Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 24–30, mar. 2021.
- 1380 ELGEDDAWY, S. A. et al. Effects of the dietary inclusion of a probiotic or prebiotic on  
1381 florfenicol pharmacokinetic profile in broiler chicken. **Journal of Animal Physiology and**  
1382 **Animal Nutrition**, v. 104, n. 2, p. 549–557, 3 mar. 2020.
- 1383 EUROPE UNION. **Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council**  
1384 **of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and**  
1385 **repealing data.europa.eu/eli/reg/2019/6/2022-01-28**, 28 jan. 2022.
- 1386 FEYE, K. M. et al. Influential factors on the composition of the conventionally raised broiler  
1387 gastrointestinal microbiomes. **Poultry Science**, v. 99, n. 2, p. 653–659, fev. 2020.
- 1388 FONG, F. L. Y. et al. Mechanism of Action of Probiotic Bacteria on Intestinal and Systemic  
1389 Immunities and Antigen-Presenting Cells. **International Reviews of Immunology**, v. 35, n. 3,  
1390 p. 179–188, 3 maio 2016a.
- 1391 FUKUSHIMA, M.; NAKANO, M. The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in  
1392 rats. **British Journal of Nutrition**, v. 73, n. 5, p. 701–710, 9 maio 1995.
- 1393 FULLER, R.; TURVEY, A. Bacteria Associated with the Intestinal Wall of the Fowl ( *Gallus*  
1394 *domesticus* ). **Journal of Applied Bacteriology**, v. 34, n. 3, p. 617–622, set. 1971.
- 1395 GADO, A. R. et al. Herbal Medicine Additives as Powerful Agents to Control and Prevent  
1396 Avian Influenza Virus in Poultry – A Review. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 4, p. 905–  
1397 935, 1 out. 2019.
- 1398 GADO, H. M.; KHUSRO, A.; SALEM, A. Z. M. Role of Probiotics in Animal Nutrition.  
1399 **Animal Review**, v. 4, n. 1, p. 8–20, 2017.
- 1400 GASKINS, H. R.; COLLIER, C. T.; ANDERSON, D. B. ANTIBIOTICS AS GROWTH  
1401 PROMOTANTS:MODE OF ACTION. **Animal Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 29–42, 11 jul.  
1402 2002.
- 1403 GERRITSEN, J. et al. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of  
1404 probiotics. **Genes & Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 209–240, 27 ago. 2011.
- 1405 GIBSON, G. R. et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Science &**  
1406 **Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 1–19, maio 2010.
- 1407 GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota:  
1408 Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412,  
1409 1 jun. 1995.

- 1410 GILLILAND, S. E.; NELSON, C. R.; MAXWELL, C. Assimilation of cholesterol by  
1411 *Lactobacillus acidophilus*. **Applied and environmental microbiology**, v. 49, n. 2, p. 377–81,  
1412 fev. 1985.
- 1413 GOH, Y. J.; KLAENHAMMER, T. R. Genetic Mechanisms of Prebiotic Oligosaccharide  
1414 Metabolism in Probiotic Microbes. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 6, n.  
1415 1, p. 137–156, 10 abr. 2015.
- 1416 GONZALES, E.; CARVALHO MELLO, H. H. DE; CAFÉ, M. B. USO DE ANTIBIÓTICOS  
1417 PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA ALIMENTAÇÃO E PRODUÇÃO ANIMAL.  
1418 **Revista UFG**, v. 13, p. 48–53, 2012.
- 1419 GONZÁLEZ, F.; SILVA, SC. **Perfil bioquímico sanguíneo: Introdução à Bioquímica**  
1420 **Clínica Veterinária**. Rio Grande do Sul - Brasil: [s.n.].
- 1421 GRANT, A.; GAY, C. G.; LILLEHOJ, H. S. *Bacillus* spp . as direct-fed microbial antibiotic  
1422 alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. **Avian Pathology**, v. 47,  
1423 n. 4, p. 339–351, 4 jul. 2018.
- 1424 GRASHORN, M. A. et al. Influence of organic acids supplement to the diet on functioning of  
1425 the digestive system in laying hens. **Archiv Für Geflügelkunde**, v. 3, n. 77, p. 155–159, 2013.
- 1426 GRECCHI, R.; SALIBA, A. M.; MARIANO, M. Morphological changes, surface receptors  
1427 and phagocytic potential of fowl mono-nuclear phagocytes and thrombocytes in vivo and in  
1428 vitro. **The Journal of Pathology**, v. 130, n. 1, p. 23–31, jan. 1980.
- 1429 HAMASALIM, H. J. Synbiotic as Feed Additives Relating to Animal Health and Performance.  
1430 **Advances in Microbiology**, v. 06, n. 04, p. 288–302, 2016.
- 1431 HAN, X. et al. Functional Analysis of a Bacitracin Resistance Determinant Located on ICE  
1432 *Cpl* , a Novel Tn 916 -Like Element from a Conjugative Plasmid in *Clostridium perfringens*.  
1433 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 11, p. 6855–6865, nov. 2015.
- 1434 HATAB, M. H.; ELSAYED, M. A.; IBRAHIM, N. S. Effect of some biological  
1435 supplementation on productive performance, physiological and immunological response of  
1436 layer chicks. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 9, n. 2, p. 185–192,  
1437 abr. 2016.
- 1438 HERNÁNDEZ, O. et al. Comparison of fractionation techniques to obtain prebiotic  
1439 galactooligosaccharides. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 9, p. 531–536, set. 2009.
- 1440 HINTON, A.; BUHR, R. J.; INGRAM, K. D. Reduction of Salmonella in the crop of broiler  
1441 chickens subjected to feed withdrawal. **Poultry Science**, v. 79, n. 11, p. 1566–1570, nov. 2000.
- 1442 HUSSEIN, E. O. S. et al. Growth, carcass characteristics, and meat quality of broilers fed a  
1443 low-energy diet supplemented with a multienzyme preparation. **Poultry Science**, v. 99, n. 4, p.  
1444 1988–1994, abr. 2020.
- 1445 HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. VAN. An update on alternatives  
1446 to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182–  
1447 188, fev. 2011.

- 1448 IJI, P. A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets.  
1449 **World's Poultry Science Journal**, v. 54, n. 2, p. 129–143, 1 jun. 1998.
- 1450 IMMERSEEL, F. VAN et al. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal  
1451 and public health. **Avian Pathology**, v. 33, n. 6, p. 537–549, dez. 2004.
- 1452 JANG, Y.-S. et al. Prevalence, toxin-typing, and antimicrobial susceptibility of *Clostridium*  
1453 *perfringens* from retail meats in Seoul, Korea. **Anaerobe**, v. 64, p. 102235, ago. 2020.
- 1454 JEURISSEN SH1 et al. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as  
1455 constituted by immunity, integrity, and functionality. **Current Issues in Intestinal**  
1456 **Microbiology**, v. 1, p. 1–14, mar. 2002.
- 1457 JUNQUEIRA, L. C. U. **Histologia básica**. 13. ed. [s.l.: s.n.].
- 1458 KANMANEE, C. et al. Effects of Dietary Supplementation with Red Yeast (*Sporidiobolus*  
1459 *pararoseus*) on Productive Performance, Egg Quality, and Duodenal Cell Proliferation of  
1460 Laying Hens. **Animals**, v. 12, n. 3, p. 238, 19 jan. 2022.
- 1461 KARUNARATNE, N. D. et al. Effects of diet hullless barley and beta-glucanase levels on ileal  
1462 digesta soluble beta-glucan molecular weight and carbohydrate fermentation in laying hens.  
1463 **Poultry Science**, p. 101735, jan. 2022.
- 1464 KAU, A. L. et al. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. **Nature**, v.  
1465 474, n. 7351, p. 327–336, 15 jun. 2011.
- 1466 KEYBURN, A. L. et al. NetB, a Pore-Forming Toxin from Necrotic Enteritis Strains of  
1467 *Clostridium perfringens*. **Toxins**, v. 2, n. 7, p. 1913–1927, 23 jul. 2010.
- 1468 KHABIROV, A. et al. Effect of Normosil Probiotic Supplementation on the Growth  
1469 Performance and Blood Parameters of Broiler Chickens. **Indian Journal of Pharmaceutical**  
1470 **Education and Research**, v. 54, n. 4, p. 1046–1055, 22 dez. 2020.
- 1471 KHADEMI, F.; SAHEBKAR, A. The prevalence of antibiotic-resistant *Clostridium* species in  
1472 Iran: a meta-analysis. **Pathogens and Global Health**, v. 113, n. 2, p. 58–66, 17 fev. 2019.
- 1473 KHAN, S. et al. The Gut Microbiota of Laying Hens and Its Manipulation with Prebiotics and  
1474 Probiotics To Enhance Gut Health and Food Safety. **Applied and Environmental**  
1475 **Microbiology**, v. 86, n. 13, 17 jun. 2020.
- 1476 KHATTAB, A. A. A. et al. Dietary probiotics as a strategy for improving growth performance,  
1477 intestinal efficacy, immunity, and antioxidant capacity of white Pekin ducks fed with different  
1478 levels of CP. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 100898, mar. 2021.
- 1479 KIEROŃCZYK, B. et al. Avian Crop Function – A Review. **Annals of Animal Science**, v. 16,  
1480 n. 3, p. 653–678, 1 jul. 2016.
- 1481 KIMMINAU, E. A. et al. Combination of probiotic and prebiotic impacts *Salmonella*  
1482 *Enteritidis* infection in layer hens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 30, n. 4, p.  
1483 100200, dez. 2021.
- 1484 KIU, R.; HALL, L. J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium*  
1485 *perfringens*. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 1–15, 1 dez. 2018.

- 1486 KOGUT, M.H.. Issues and consequences of using nutrition to modulate the avian immune  
1487 response. **Journal Of Applied Poultry Research**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 605-612, dez. 2017
- 1488 KOOPMAN, J. P. et al. “Normalization” of germfree mice with anaerobically cultured caecal  
1489 flora of “normal” mice. **Laboratory Animals**, v. 18, n. 2, p. 188–194, 1 abr. 1984.
- 1490 KUMAR, S. et al. Effect of antibiotic withdrawal in feed on chicken gut microbial dynamics,  
1491 immunity, growth performance and prevalence of foodborne pathogens. **PLOS ONE**, v. 13, n.  
1492 2, p. e0192450, 14 fev. 2018.
- 1493 KWIATKOWSKI, S.; EDGAR, S. Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Glucan Polysaccharides  
1494 – Occurrence, Separation and Application in Food, Feed and Health Industries. In: **The**  
1495 **Complex World of Polysaccharides**. [s.l.] InTech, 2012.
- 1496 LABBÉ, R. G. Clostridium perfringens. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 74, n. 4,  
1497 p. 711–714, 1 jul. 1991.
- 1498 LATORRE, J. D. et al. Evaluation of the Epithelial Barrier Function and Ileal Microbiome in  
1499 an Established Necrotic Enteritis Challenge Model in Broiler Chickens. **Frontiers in**  
1500 **Veterinary Science**, v. 5, 21 ago. 2018.
- 1501 LI, J. et al. Toxin Plasmids of Clostridium perfringens. **Microbiology and Molecular Biology**  
1502 **Reviews**, v. 77, n. 2, p. 208–233, jun. 2013.
- 1503 LI, J. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Clostridium perfringens in chickens  
1504 and pigs from Beijing and Shanxi, China. **Veterinary Microbiology**, v. 252, p. 108932, jan.  
1505 2021.
- 1506 LI, X. et al. Effect of fructooligosaccharides and antibiotics on laying performance of chickens  
1507 and cholesterol content of egg yolk. **British Poultry Science**, v. 48, n. 2, p. 185–189, 22 abr.  
1508 2007.
- 1509 LI, Z. et al. Effects of Lactobacillus acidophilus on the growth performance and intestinal health  
1510 of broilers challenged with Clostridium perfringens. **Journal of Animal Science and**  
1511 **Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 25, 27 dez. 2018.
- 1512 LUOMA, A. et al. Effect of synbiotic supplementation on layer production and cecal  
1513 Salmonella load during a Salmonella challenge. **Poultry Science**, v. 96, n. 12, p. 4208–4216,  
1514 dez. 2017.
- 1515 LV, J. et al. Effects of different probiotic fermented feeds on production performance and  
1516 intestinal health of laying hens. **Poultry Science**, v. 101, n. 2, p. 101570, fev. 2022.
- 1517 MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de**  
1518 **corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.
- 1519 MAHROSE, K. M. et al. Influences of stocking density and dietary probiotic supplementation  
1520 on growing Japanese quail performance. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n.  
1521 2, 2019.
- 1522 MALIK, J. K. et al. Synbiotics in Animal Health and Production. **Nutraceuticals in Veterinary**  
1523 **Medicine**, p. 287–301, 2019.

- 1524 MARKAZI, A. et al. Effects of drinking water synbiotic supplementation in laying hens  
1525 challenged with Salmonella. **Poultry Science**, v. 97, n. 10, p. 3510–3518, out. 2018.
- 1526 MARKOWIAK, P.; ŚLIŹEWSKA, K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in  
1527 animal nutrition. **Gut Pathogens**, v. 10, n. 1, p. 21, 6 dez. 2018.
- 1528 MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human  
1529 Health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 718–733, out. 2011.
- 1530 MATUR, E. et al. The effects of *Saccharomyces cerevisiae* extract on the weight of some  
1531 organs, liver, and pancreatic digestive enzyme activity in breeder hens fed diets contaminated  
1532 with aflatoxins. **Poultry Science**, v. 89, n. 10, p. 2213–2220, out. 2010.
- 1533 MATUR, E.; ERASL, E. The Impact of Probiotics on the Gastrointestinal Physiology. In: **New**  
1534 **Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology**. [s.l.] InTech, 2012.
- 1535 MELILLO, A. Applications of Serum Protein Electrophoresis in Exotic Pet Medicine.  
1536 **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 211–225, jan.  
1537 2013.
- 1538 METZLER-ZEBELI, B. U. et al. Feed Restriction Modifies Intestinal Microbiota-Host  
1539 Mucosal Networking in Chickens Divergent in Residual Feed Intake. **mSystems**, v. 4, n. 1, 26  
1540 fev. 2019.
- 1541 MICHALSKA, K. et al. Effective Microorganisms (EM) Improve Internal Organ Morphology,  
1542 Intestinal Morphometry and Serum Biochemical Activity in Japanese Quails under *Clostridium*  
1543 *perfringens* Challenge. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2786, 8 maio 2021.
- 1544 MIGLIORINI, M. J. et al. Oregano essential oil (*Origanum vulgare*) to feed laying hens and its  
1545 effects on animal health. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 1, 2019.
- 1546 MOHAMED, L. A. et al. Effect of low- or high-CP diet with cold-pressed oil supplementation  
1547 on growth, immunity and antioxidant indices of growing quail. **Journal of Animal Physiology**  
1548 **and Animal Nutrition**, v. 103, n. 5, p. 1380–1387, 29 set. 2019.
- 1549 MOHAMMED, A. A. et al. Effect of a synbiotic supplement on cecal microbial ecology,  
1550 antioxidant status, and immune response of broiler chickens reared under heat stress. **Poultry**  
1551 **Science**, v. 98, n. 10, p. 4408–4415, out. 2019.
- 1552 MOHANNAD M, A.; YASSER J, J.; NIHAD A, A. EFFECT OF YEAST CELL WALL ON  
1553 EGG QUALITY OF IRAQI LAYING HENS. **Biochem. Cell. Arch.**, v. 20, n. 2, p. 4487–4489,  
1554 2020.
- 1555 MOOKIAH, S. et al. Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance,  
1556 caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens.  
1557 **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 341–348, 30 jan. 2014.
- 1558 MOUNTZOURIS, K. C. et al. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth  
1559 performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora  
1560 composition. **Poultry Science**, v. 89, n. 1, p. 58–67, jan. 2010.

- 1561 MOURA, P. et al. In vitro fermentation of xylo-oligosaccharides from corn cobs autohydrolysis  
1562 by Bifidobacterium and Lactobacillus strains. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n.  
1563 6, p. 963–972, ago. 2007.
- 1564 MURATE, L. S. et al. Efficacy of Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics on Laying Hens and  
1565 Broilers Challenged with Salmonella Enteritidis. **The Journal of Poultry Science**, v. 52, n. 1,  
1566 p. 52–56, 2015.
- 1567 MWANGI, S. et al. Characterization of Clostridium perfringens recovered from broiler chicken  
1568 affected by necrotic enteritis. **Poultry Science**, v. 98, n. 1, p. 128–135, jan. 2019.
- 1569 NATSIR, M. H.; WICAKSONO, M. I. T. The Effect of White Oyster Mushroom (Pleurotus  
1570 ostreatus) Flour Addition in Feed to the Performances of Laying Hens. **IOP Conference Series:  
1571 Earth and Environmental Science**, v. 478, n. 1, p. 012085, 1 abr. 2020.
- 1572 OAKLEY, B. B. et al. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**,  
1573 v. 360, n. 2, p. 100–112, nov. 2014.
- 1574 OGBOKO, B. Lipid Profile of Broilers Fed Zinc Bacitracin on Plant and Animal Protein Diets.  
1575 **International Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 7, p. 567–573, 15 jun. 2011.
- 1576 OOI, L.-G.; LIONG, M.-T. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A  
1577 Review of in Vivo and in Vitro Findings. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11,  
1578 n. 6, p. 2499–2522, 17 jun. 2010.
- 1579 **FAO. Outputs and activities of FAO Project FMM/RAS/298/MUL and summary of FAO's**  
1580 **recent work on antimicrobial resistance in aquaculture.** [s.l.] FAO, 2020.
- 1581 OYOFO, B. A. et al. Prevention of Salmonella typhimurium Colonization of Broilers with D-  
1582 Mannose. **Poultry Science**, v. 68, n. 10, p. 1357–1360, out. 1989.
- 1583 PAL, C. et al. The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes.  
1584 **Microbiome**, v. 4, n. 1, p. 54, 7 dez. 2016.
- 1585 PALIĆ, D. et al. Immunomodulatory effects of  $\beta$ -glucan on neutrophil function in fathead  
1586 minnows (Pimephales promelas Rafinesque, 1820). **Developmental & Comparative  
1587 Immunology**, v. 30, n. 9, p. 817–830, jan. 2006.
- 1588 PARASKEUAS, V.; MOUNTZOURIS, K. C. Broiler gut microbiota and expressions of gut  
1589 barrier genes affected by cereal type and phytogenic inclusion. **Animal Nutrition**, v. 5, n. 1, p.  
1590 22–31, mar. 2019.
- 1591 PARK, J. H.; SURESHKUMAR, S.; KIM, I. H. Egg production, egg quality, nutrient  
1592 digestibility, and excreta microflora of laying hens fed with a diet containing brewer's yeast  
1593 hydrolysate. **Journal of Applied Animal Research**, v. 48, n. 1, p. 492–498, 1 jan. 2020.
- 1594 PINEDA-QUIROGA, C. et al. Microbial and Functional Profile of the Ceca from Laying Hens  
1595 Affected by Feeding Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics. **Microorganisms**, v. 7, n. 5, p. 123,  
1596 6 maio 2019.
- 1597 POLONI, V. et al. A Saccharomyces cerevisiae RC016-based feed additive reduces liver  
1598 toxicity, residual aflatoxin B1 levels and positively influences intestinal morphology in broiler

- 1599 chickens fed chronic aflatoxin B1-contaminated diets. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 31–38,  
1600 mar. 2020.
- 1601 POURABEDIN, M.; ZHAO, X. Probiotics and gut microbiota in chickens. **FEMS**  
1602 **Microbiology Letters**, v. 362, n. 15, p. fnv122, ago. 2015.
- 1603 RAMIREZ, S. Y.; PEÑUELA-SIERRA, L. M.; OSPINA, M. A. Effects of oregano (*Lippia*  
1604 *origanoides*) essential oil supplementation on the performance, egg quality, and intestinal  
1605 morphometry of Isa Brown laying hens. **Veterinary World**, v. 14, n. 3, p. 595–602, 9 mar.  
1606 2021.
- 1607 RASHIDI, N. et al. Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar  
1608 on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed  
1609 to aflatoxin-B1. **Poultry Science**, v. 99, n. 11, p. 5896–5906, nov. 2020.
- 1610 RATHER, I. A. et al. Antiviral mode of action of *Lactobacillus plantarum* YML009 on  
1611 Influenza virus H1N1. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 475, 1 jun. 2015.
- 1612 REHMAN, H. U. et al. Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the  
1613 gastrointestinal tract of broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 319–  
1614 335, 31 out. 2007.
- 1615 REUBEN, R. C. et al. Novel multi-strain probiotics reduces *Pasteurella multocida* induced fowl  
1616 cholera mortality in broilers. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 8885, 26 dez. 2021.
- 1617 RICKE, S. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials.  
1618 **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632–639, abr. 2003.
- 1619 ROOBAB, U. et al. Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics.  
1620 **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 17–28, abr. 2020.
- 1621 ROOD, J. I. et al. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme.  
1622 **Anaerobe**, v. 53, p. 5–10, out. 2018.
- 1623 ROTH, N. et al. Prevalence of antibiotic-resistant *E. coli* in broilers challenged with a multi-  
1624 resistant *E. coli* strain and received ampicillin, an organic acid-based feed additive or a synbiotic  
1625 preparation. **Poultry Science**, v. 98, n. 6, p. 2598–2607, jun. 2019.
- 1626 SAEED, M. et al. Health promoting and pharmaceutical potential of ferulic acid for the poultry  
1627 industry. **World's Poultry Science Journal**, v. 75, n. 1, p. 83–92, 1 mar. 2019.
- 1628 SAKAMOTO, K. et al. Quantitative Study of Changes in Intestinal Morphology and Mucus  
1629 Gel on Total Parenteral Nutrition in Rats. **Journal of Surgical Research**, v. 94, n. 2, p. 99–  
1630 106, dez. 2000.
- 1631 SALMAN, J. A. S. Synbiotic Effect of Probiotic (*Bifidobacterium* sp) and Prebiotics (Chicory  
1632 and Inulin) against Some Pathogenic Bacteria. . **Um-Salama Science Journal**, v. 6, p. 355–  
1633 360, 2009.
- 1634 SANDVANG, D. et al. Effects of feed supplementation with 3 different probiotic *Bacillus*  
1635 strains and their combination on the performance of broiler chickens challenged with  
1636 *Clostridium perfringens*. **Poultry Science**, v. 100, n. 4, p. 100982, abr. 2021.

- 1637 SÁENZ, J. et al. Oral administration of antibiotics increased the potential mobility of bacterial  
1638 resistance genes in the gut of the fish *Piaractus mesopotamicus*. **Microbiome**, v. 7, n. 1, p. 1-  
1639 14, 18 fev. 2019.
- 1640 SAXENA, S. et al. Characterisation of caecum and crop microbiota of Indian indigenous  
1641 chicken targeting multiple hypervariable regions within 16S rRNA gene. **British Poultry**  
1642 **Science**, v. 57, n. 3, p. 381–389, 3 maio 2016.
- 1643 SEKHON, B. S.; JAIRATH, S. Prebiotics, probiotics and synbiotics: an overview. **Journal of**  
1644 **Pharmaceutical Education & Research**, v. 1, n. 2, p. 13–36, 2010.
- 1645 SHAKOURI, M. D. et al. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as  
1646 influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. **Journal of Animal**  
1647 **Physiology and Animal Nutrition**, v. 93, n. 5, p. 647–658, out. 2009.
- 1648 SHANG, Y. et al. Chicken Gut Microbiota: Importance and Detection Technology. **Frontiers**  
1649 **in Veterinary Science**, v. 5, 23 out. 2018.
- 1650 SHARMA, P.; BHARDWAJ, P.; SINGH, R. Administration of *Lactobacillus casei* and  
1651 *Bifidobacterium bifidum* ameliorated hyperglycemia, dyslipidemia, and oxidative stress in  
1652 diabetic rats. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 7, n. 1, p. 102, 2016.
- 1653 SHENDE, K. et al. Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Powder and Synbiotic as Alternative  
1654 to Antibiotic Growth Promoter on Haemato-biochemical Parameters, Comparative Economics  
1655 and Mortality of Broiler Chicks. **International Journal of Bio-resource and Stress**  
1656 **Management**, v. 12, n. 2, p. 125–130, 30 abr. 2021.
- 1657 SHEWITA, R. S.; TAHA, A. E. Influence of dietary supplementation of ginger powder at  
1658 different levels on growth performance, haematological profiles, slaughter traits and gut  
1659 morphometry of broiler chickens. **South African Journal of Animal Science**, v. 48, n. 6, 5  
1660 fev. 2019.
- 1661 SHOKRI, D. et al. The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation  
1662 of *Pseudomonas aeruginosa*. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 10, n. 1, p. 34–42, 14  
1663 mar. 2018.
- 1664 SILVA, R. O. S. et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* strains isolated  
1665 from broiler chickens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 262–264, jun. 2009.
- 1666 SJOFJAN, O. et al. Effect Of Symbiotic Flour (*Lactobacillus* Sp. And FOS) To The Egg Quality  
1667 And Performance Of Laying Hens. **IOP Conference Series: Earth and Environmental**  
1668 **Science**, v. 465, n. 1, p. 012033, 1 mar. 2020.
- 1669 ŚLIŹEWSKA, K. et al. The effect of synbiotic preparations on the intestinal microbiota and her  
1670 metabolism in broiler chickens. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 4281, 9 dez. 2020.
- 1671 SMYTH, J. A.; MARTIN, T. G. Disease producing capability of netB positive isolates of *C.*  
1672 *perfringens* recovered from normal chickens and a cow, and netB positive and negative isolates  
1673 from chickens with necrotic enteritis. **Veterinary Microbiology**, v. 146, n. 1–2, p. 76–84, nov.  
1674 2010.



- 1675 SOOMRO, R. N. et al. Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth  
1676 performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. **Animal Science Journal**, v. 90,  
1677 n. 10, p. 1388–1395, 29 out. 2019.
- 1678 SOUSA, D. C. et al. Caracterização morfológica do trato gastrointestinal de frangos de corte da  
1679 linhagem Cobb 500®. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. suppl 1, p. 61–68, dez. 2015.
- 1680 STANLEY, D.; HUGHES, R. J.; MOORE, R. J. Microbiota of the chicken gastrointestinal  
1681 tract: influence on health, productivity and disease. **Applied Microbiology and**  
1682 **Biotechnology**, v. 98, n. 10, p. 4301–4310, 19 maio 2014.
- 1683 SUGIHARTO, S. et al. The effect of supplementation of multistrain probiotic preparation in  
1684 combination with vitamins and minerals to the basal diet on the growth performance, carcass  
1685 traits, and physiological response of broilers. **Veterinary World**, v. 11, n. 2, p. 240–247, fev.  
1686 2018.
- 1687 SUNU, P. et al. Effect of synbiotic from *Allium sativum* and *Lactobacillus acidophilus* on  
1688 hematological indices, antioxidative status and intestinal ecology of broiler chicken. **Journal**  
1689 **of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 20, n. 2, p. 103–110, fev. 2021.
- 1690 SUZUKI, K.; NAKAJIMA, A. New aspects of IgA synthesis in the gut. **International**  
1691 **Immunology**, v. 26, n. 9, p. 489–494, 1 set. 2014.
- 1692 SVIHUS, B. Function of the digestive system. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 23,  
1693 n. 2, p. 306–314, jun. 2014.
- 1694 SWANSON, K. S. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics  
1695 (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews**  
1696 **Gastroenterology & Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 687–701, 21 nov. 2020.
- 1697 TANG, S. G. H. et al. Performance, biochemical and haematological responses, and relative  
1698 organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic.  
1699 **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 248, 17 dez. 2017.
- 1700 TAO, Y. et al. Production performance, egg quality, plasma biochemical constituents and lipid  
1701 metabolites of aged laying hens supplemented with incomplete degradation products of  
1702 galactomannan. **Poultry Science**, v. 100, n. 8, p. 101296, ago. 2021.
- 1703 TAVARES DIAS, M. **Variáveis hematológicas de teleósteos brasileiros de importância**  
1704 **zootécnica**. Jaboticabal, São Paulo, Brazil: [s.n.].
- 1705 TEIRLYNCK, E. et al. Morphometric evaluation of “dysbacteriosis” in broilers. **Avian**  
1706 **Pathology**, v. 40, n. 2, p. 139–144, abr. 2011.
- 1707 THEMA, K. et al. Evaluating Alternatives to Zinc-Bacitracin Antibiotic Growth Promoter in  
1708 Broilers: Physiological and Meat Quality Responses. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1160, 17 dez.  
1709 2019.
- 1710 THOMPSON, J. L.; HINTON, M. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the  
1711 diet of hens on salmonellas in the crop. **British Poultry Science**, v. 38, n. 1, p. 59–65, mar.  
1712 1997.

- 1713 THRALL, A. M. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro:  
1714 Guanabara Koogan., 2015.
- 1715 TIMBERMONT, L. et al. Control of *Clostridium perfringens* -induced necrotic enteritis in  
1716 broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. **Avian Pathology**, v. 39,  
1717 n. 2, p. 117–121, 8 abr. 2010.
- 1718 TIWARI, G. et al. Promising future of probiotics for human health: Current scenario.  
1719 **Chronicles of Young Scientists**, v. 3, n. 1, p. 17, 2012.
- 1720 VIDENSKA, P. et al. Succession and Replacement of Bacterial Populations in the Caecum of  
1721 Egg Laying Hens over Their Whole Life. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. e115142, 12 dez. 2014.
- 1722 VIECO-SAIZ, N. et al. Benefits and Inputs From Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins  
1723 as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters During Food-Animal Production. **Frontiers in**  
1724 **Microbiology**, v. 10, 11 fev. 2019.
- 1725 VILLAGRÁN-DE LA MORA, Z. et al. Effect of a Synbiotic Mix on Intestinal Structural  
1726 Changes, and Salmonella Typhimurium and Clostridium Perfringens Colonization in Broiler  
1727 Chickens. **Animals**, v. 9, n. 10, p. 777, 10 out. 2019.
- 1728 WAITE, D. W.; TAYLOR, M. W. Exploring the avian gut microbiota: current trends and future  
1729 directions. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 3 jul. 2015.
- 1730 WALES, A. D.; ALLEN, V. M.; DAVIES, R. H. Chemical Treatment of Animal Feed and  
1731 Water for the Control of *Salmonella*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, n. 1, p. 3–15,  
1732 jan. 2010. r
- 1733 WANG, N. et al. Detoxification Strategies for Zearalenone Using Microorganisms: A Review.  
1734 **Microorganisms**, v. 7, n. 7, p. 208, 21 jul. 2019.
- 1735 WANG, W. et al. Effects of prebiotic supplementation on growth performance, slaughter  
1736 performance, growth of internal organs and small intestine and serum biochemical parameters  
1737 of broilers. **Journal of Applied Animal Research**, v. 43, n. 1, p. 33–38, 2 jan. 2015.
- 1738 WARD, T.L. et al. Antibiotics and Host-Tailored Probiotics Similarly Modulate Effects on the  
1739 Developing Avian Microbiome, Mycobiome, and Host Gene Expression. **Mbio**, [S.L.], v. 10,  
1740 n. 5, p. 1-17, 29 out. 2019.
- 1741 WEI, S.; MORRISON, M.; YU, Z. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. **Poultry**  
1742 **Science**, v. 92, n. 3, p. 671–683, mar. 2013.
- 1743 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Subject, drug resistant Salmonella**. . Disponível  
1744 em: <<https://www.who.int/media centre/factsheets/fs139/en/>>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- 1745 XU, Q. et al. Effects of chitoooligosaccharide supplementation on laying performance, egg  
1746 quality, blood biochemistry, antioxidant capacity and immunity of laying hens during the late  
1747 laying period. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 1180–1187, 14 dez. 2020.
- 1748 XU, W. et al. Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* isolated from different  
1749 chicken farms in China. **Anaerobe**, v. 72, p. 102467, dez. 2021.
- 1750 XU, Y. et al. High-throughput sequencing technology to reveal the composition and function  
1751 of cecal microbiota in Dagu chicken. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 259, 4 dez. 2016.

- 1752 YAN, F. F. et al. Effects of a dietary synbiotic inclusion on bone health in broilers subjected to  
1753 cyclic heat stress episodes. **Poultry Science**, v. 98, n. 3, p. 1083–1089, mar. 2019.
- 1754 YAQOOB, M. U. et al. The potential mechanistic insights and future implications for the effect  
1755 of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology. **Poultry**  
1756 **Science**, v. 100, n. 7, p. 101143, jul. 2021.
- 1757 YATOO, MOHD. I. et al. Beneficial health applications and medicinal values of Pedicularis  
1758 plants: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 95, p. 1301–1313, nov. 2017.
- 1759 YAZDI, F. F. et al. Efficiency of Tribulus terrestris L. as an antibiotic growth promoter  
1760 substitute on performance and immune responses in broiler chicks. **Asian Pacific Journal of**  
1761 **Tropical Disease**, v. 4, p. S1014–S1018, set. 2014.
- 1762 YEOMAN, C. J. et al. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. **Animal health**  
1763 **research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases**, v. 13, n. 1, p. 89–  
1764 99, 2012.
- 1765 YITBAREK, A et al. Gut microbiota modulates type I interferon and antibody-mediated  
1766 immune responses in chickens infected with influenza virus subtype H9N2. **Beneficial**  
1767 **Microbes**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 417-427, 25 abr. 2018.
- 1768 YOO, J.; KIM, S. Probiotics and Prebiotics: Present Status and Future Perspectives on  
1769 Metabolic Disorders. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 173, 18 mar. 2016.
- 1770 YOON, S.-H.; MUKERJEA, R.; ROBYT, J. F. Specificity of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)  
1771 in removing carbohydrates by fermentation. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 10, p. 1127–  
1772 1132, maio 2003.
- 1773 YOUSSEF, A. W. et al. Effect of Probiotics, Prebiotics and Organic Acids on Layer  
1774 Performance and Egg Quality. **Asian Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 2, p. 65–74, 15 jun.  
1775 2013.
- 1776 YU, W. et al. Evaluation of the Effect of Bacillus Subtilis and Pediococcus Acidilactici Mix on  
1777 Serum Biochemistry, Growth Promotion of Body and Visceral Organs in Lohmann Brown  
1778 Chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 22, n. 3, 2020.
- 1779 ZHANG, B. et al. Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on the performance and  
1780 the digestive tract of broiler chickens. **Archives of Animal Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 329–339,  
1781 ago. 2011.
- 1782 ZHANG, H. et al. Alleviating effect of dietary supplementation of benzoic acid, Enterococcus  
1783 faecium and essential oil complex on coccidia and Clostridium perfringens challenge in laying  
1784 hens. **Poultry Science**, p. 101720, jan. 2022.
- 1785 ZHANG, P. et al. Probiotic mixture ameliorates heat stress of laying hens by enhancing  
1786 intestinal barrier function and improving gut microbiota. **Italian Journal of Animal Science**,  
1787 v. 16, n. 2, p. 292–300, 3 abr. 2017.
- 1788 ZHEN, W. et al. Dietary yeast  $\beta$ -glucan supplementation improves eggshell color and fertile  
1789 eggs hatchability as well as enhances immune functions in breeder laying hens. **International**  
1790 **Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 607–621, set. 2020.