

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Uso de probiótico em situações de desafios nutricional e sanitário em
frangos de corte**

ANDRÉ LUIZ GHIOTTI
Médico Veterinário/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia

Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março, 2015.

CIP - Catalogação na Publicação

André Luiz Ghiotti,

Uso de probiótico em situações de desafio
nutricional e sanitário em frangos de corte / André
Luiz Ghiotti. -- 2015.

57 f.

Orientador: Sérgio Luiz Vieira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2015.

1. probiótico. 2. frango de corte. 3. nutrição. I.
Vieira, Sérgio Luiz , orient. II. Título.

ANDRÉ LUIZ GHIOTTI
Médico Veterinário

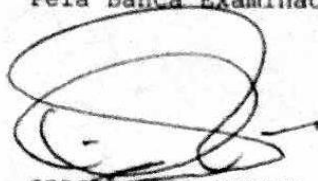
DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

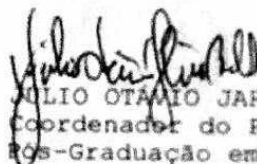
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 30.03.2015
Pela Banca Examinadora

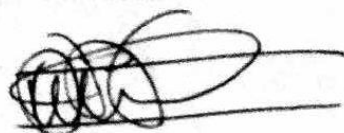


SERGIO LUIZ VIEIRA
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

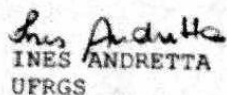
Homologado em: 20.05.2015
Por



JULIO OTAVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



DANILO PEDRO STREIT JR.
PPG ZOOTECNIA-UFRGS



INES ANDRETTA
UFRGS



LIRIS KINDLEIN
UFRGS



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luis e Tere Ghiotti pela educação que tive, a qual me proporcionou chegar até este momento.

Ao meu irmão Alexandre Ghiotti por estar presente em todas minhas conquistas e ser um exemplo para minhas decisões e atitudes.

Ao professor Sérgio Vieira pela orientação, oportunidade, confiança, ensinamentos e amizade.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) por fazer parte da minha vida.

A minha esposa Karina e a minha filha Ana Luiza pelo amor, amizade, incentivo e companheirismo incondicional.

Aos colegas do Aviário: Catarina Stefanello, Barbara Mallmann, César Pontin, Heitor Rios, Guilherme Gerhardt, Liliane Borsatti, Diogo Taschetto, Henrique Cemin, Rafael Fontana, Natália Serafini, Gabriela Santiago, Marco Antônio Ebbing, Silvana Rauber e Daniel Miranda.

Aos colegas e amigos Leandro Bianchet, Marlon Guzzi e Érico Mello.

Aos funcionários do Aviário Márcio e Felipe.

Ao amigo Manolo Estrázulas pela estadia em sua casa durante estes 2 anos.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - UFRGS.

USO DE PROBIÓTICO EM SITUAÇÕES DE DESAFIOS NUTRICIONAL E SANITÁRIO EM FRANGOS DE CORTE

Autor: André Luiz Ghiotti

Orientador: Sérgio Luiz Vieira

Resumo - Com a finalidade de substituir os antibióticos como promotores de crescimento, alguns produtos estão sendo adotados na alimentação de não-ruminantes, como por exemplo, os próbióticos. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de um probiótico composto de *Bacillus subtilis*, na concentração mínima de 1×10^{10} UFC / g de ração, sobre o desempenho zootécnico, escore de lesão intestinal e rendimento de carcaça de frangos de corte. Foram alojados 2.016 frangos machos da linhagem Cobb 500, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com 8 tratamentos, 9 repetições e 28 aves cada. As dietas consistiram em: dieta à base de milho e farelo de soja (Regular); dieta má absorção (6% de soja crua); seis dietas má absorção: má absorção + vacina coccidiose com e sem inoculação das aves com *Clostridium perfringens*; dieta má absorção + probiótico com e sem inoculação de *Clostridium perfringens*; dieta má absorção + vacina coccidiose + probiótico e dieta má absorção + vacina coccidiose 10X + probiótico + inoculação de *Clostridium perfringens*. O desempenho foi avaliado nos dias 1, 7, 21, 35 e 42, 5 aves por box foram sacrificadas para avaliação de lesão intestinal, rendimento de carcaça e cortes comerciais. As aves que receberam a dieta má absorção + vacina coccidiose 10X + probiótico + *Clostridium perfringens* tiveram menor ganho de peso acumulado que as aves que consumiram a Regular ($P < 0,05$). A pior conversão alimentar foi observada com o fornecimento da dieta má absorção + *Clostridium perfringens* + vacina coccidiose e sem probiótico ($P < 0,05$). Os tratamentos não tiveram efeito relevante nos escores de lesões intestinais. O rendimento de carcaça não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$). Observou-se que os tratamentos que receberam probiótico adicionado na ração obtiveram resultado semelhante aos que receberam a dieta regular, independentemente da inoculação do *Clostridium perfringens*, com exceção do tratamento que foi desafiado com uma dose 10X da vacina coccidiose. Assim, o uso do probiótico reduziu os efeitos negativos do desafio nutricional e sanitário.

Palavras chave: *Bacillus subtilis*, frangos de corte, probiótico, soja crua.

¹Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (57 p.), Março, 2015.

USE OF PROBIOTIC IN NUTRITIONAL AND HEALTH CHALLENGES SITUATIONS IN BROILERS

Author: André Luiz Ghiotti

Advisor: Sérgio Luiz Vieira

Abstract – In order to change the antibiotics as growth promoter, there are products been used at non-ruminants feeding, as probiotics. This study aimed to evaluate the effect of a probiotic composes with *Bacillus subtilis*, on minimum concentration of 1×10^{10} UFC / g of diet, on the performance, intestinal lesion scores and carcass yield evaluation of broilers. A total of 2,016 Cobb 500 male broilers were housed in a completely randomized design with 8 treatments, 9 repetitions of 28 birds each. The following diets were provided: diet based on corn and soybean meal (Regular); diet malabsorption (6 % raw soybean); six diets malabsorption: diet malabsorption + coccidiosis vaccine with and without inoculation of birds with *Clostridium perfringens*, diet malabsorption + probiotic with and without inoculation with *Clostridium perfringens*, diet malabsorption + coccidiosis vaccine + probiotic and diet malabsorption + coccidiosis vaccine 10X + probiotic + *Clostridium perfringens* . The performance was evaluated at days 1, 7, 21 and 42, 5 birds per pen were sacrificed for carcass yield and commercial cuts evaluation. The birds fed the diet diet malabsorption + coccidiosis vaccine 10X + probiotic + *Clostridium perfringens* had worse accumulated weight gain that birds fed Regular ($P < 0.05$). The worst feed conversion ratio was observed on birds that received the diet containing diet malabsorption + *Clostridium perfringens* + coccidiosis vaccine without probiotic ($P < 0.05$). The treatments did not have relevant effect on intestinal lesion scores. The carcass yield did not differ between treatments ($P > 0.05$). It was observed that the treatments they received probiotic added in the feed obtained a result similar to that received the regular diet, regardless of inoculation of *Clostridium perfringens*, with the exception of the treatment that has been challenged with a dose 10 x coccidiosis vaccine. Therefore, the use of probiotics reduced the negative effects of nutritional and health challenge.

Key words: *Bacillus subtilis*, broilers, probiotic, raw soybean.

¹Master of Science dissertation in Animal Production – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (58p.), March, 2015.

SUMÁRIO

CAPITULO I.....	11
INTRODUÇÃO.....	12
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
Microbiota intestinal.....	14
Mecanismo de ação e características dos probióticos.....	15
Probióticos x antibióticos.....	17
Utilização precoce de probióticos.....	20
Interferência de fatores nutricionais e sanitários.....	20
HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	23
CAPÍTULO II.....	24
Growth performance of broilers supplemented with <i>Bacillus subtilis</i> probiotic	26
Abstract.....	27
Introduction.....	27
Material and Methods.....	30
Results and discussion.....	33
Conclusions.....	35
Acknowledgements.....	36
References.....	36
CAPÍTULO III.....	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
APÊNDICE.....	54
VITA.....	58

RELAÇÃO DE TABELAS

CAPÍTULO I	11
Tabela 1. Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade.....	16
CAPÍTULO II	24
Tabela 1. Feed formulas used in the experiment.....	38
Tabela 2. Effects of treatments on body weight gain from 1 to 42 days of age.....	39
Tabela 3. Effects of treatments on accumulated body weight gain from 1 to 42 days of age.....	40
Tabela 4. Effects of treatments on accumulated feed intake from 1 to 42 days old.....	41
Tabela 5. Effect of treatments on feed conversion ratios corrected for the weight of dead birds.....	42
Tabela 6. Effect of treatments on accumulated feed conversion ratios corrected for the weight of dead birds.....	43
Tabela 7. Effect of treatments on mortality from 1 to 42 days old.....	44
Tabela 8. Carcass, abdominal fat and yields of the commercial cuts.....	45

RELAÇÃO DE APÊNDICES

Apêndice 1. Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Brazilian Journal of Poultry Science.....	54
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
EM	Energia metabolizável
g	Gramas
kg	Quilogramas
m ²	Metros quadrados
MA	Má absorção
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
T	Tratamento
TGI	Trato gastrointestinal
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UFV	Universidade Federal de Viçosa

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A avançada tecnologia empregada na indústria avícola tem aumentado a produtividade de frangos de corte. Porém, fatores estressantes como a alta densidade de animais alojados, a vacinação, variações na temperatura e desafios nutricionais podem induzir problemas na microflora intestinal das aves, podendo diminuir o seu desempenho produtivo. Além disso, diante da constante pressão do consumidor e grupos legisladores para o abandono/substituição do uso dos tradicionais antibióticos como promotores de crescimento em rações animais, torna-se necessário o estudo consistente da introdução de alternativas que possibilitem a manutenção dos atuais níveis de desempenho das aves e lucratividade do setor. Sabemos que na ausência de bactérias gastrointestinais, devido à presença de antibióticos na dieta, a necessidade do recrutamento de células imunes para o intestino está reduzida e conseqüentemente, o desempenho animal é melhorado. É neste contexto que se encaixam os produtos de origem microbiana, como os probióticos, uma vez que a simples retirada dos antibióticos certamente irá provocar sérios danos ao desempenho das aves.

Porém, é importante lembrar que ainda existe uma lista positiva de princípios ativos (antimicrobianos, agonistas e anticoccidianos) liberados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso na dieta de animais. Neste documento constam, além dos princípios ativos, as espécies e as fases de produção em que podem ser utilizados, dosagens permitidas e período de carência (prazo para retirada antes do abate). Atualmente o MAPA permite a presença de apenas um antimicrobiano e/ou um anticoccidiano na composição das dietas.

Para formular uma dieta com as características nutricionais e fisiológicas que o animal necessita devemos conhecer os microrganismos que estarão envolvidos com a condição de saúde do plantel. O conjunto de microrganismos (microbiota) que colonizam o trato gastrointestinal (TGI) dos animais não ruminantes tem papel fundamental na nutrição, desempenho, qualidade de produtos e no bem estar dos mesmos. As bactérias aderem-se ao epitélio intestinal através da ligação de polissacarídeos presentes em sua membrana com o glicocálix (ou fímbrias) da mucosa intestinal. A aderência à mucosa intestinal parece, portanto, o mecanismo chave da colonização das bactérias, e seus efeitos sobre a saúde intestinal.

Logo após a eclosão, o trato gastrointestinal das aves é colonizado por microrganismos, sendo alguns benéficos e outros patógenos. A microbiota benéfica auxilia na digestão e absorção de nutrientes, produz vitaminas que serão utilizadas pelo hospedeiro (vitamina K, por exemplo) e diminui, por exclusão competitiva, a proliferação de agentes patogênicos (Nurmi & Rantala, 1973). A microbiota nociva pode causar inflamações na mucosa intestinal, produzir toxinas e propiciar o aparecimento de enfermidades.

Segundo Fuller (1989), probiótico é um suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal. Entre os principais microrganismos utilizados como probióticos, destacam-se os dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, além das leveduras.

O *Bacillus subtilis* é uma espécie de bactéria gram-positiva, saprófita comum do solo e da água. É um organismo esporulado, não patogênico e termofílico. Desta forma, este microrganismo é capaz de resistir a altas temperaturas que possam eventualmente ocorrer no processamento da ração. O *Bacillus subtilis* é considerado uma bactéria transitória da mucosa intestinal e que promove um meio adequado para o crescimento e colonização do epitélio por outros microrganismos benéficos.

O modo de ação dos probióticos ainda não está completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados. Um deles é a exclusão competitiva (conceito de Nurmi), em que o agente que compõe o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente (Nurmi & Rantala, 1973). A exclusão competitiva explicaria a necessidade da administração continuada e a elevadas doses dos probióticos, para manifestar seus efeitos (Coppola, 2004). Os probióticos podem também afetar patógenos através da síntese de bacteriocinas, de ácidos orgânicos e de peróxido de hidrogênio, ou atuar sobre o metabolismo celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo e liberando enzimas como a lactase.

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da adição de probiótico a base de *Bacillus subtilis* (1×10^{10} UFC / g de ração) em dietas de frangos de corte formuladas com milho, farelo de soja e soja integral não desativada fornecidas para aves inoculadas ou não com *Clostridium Perfringes*. Os parâmetros avaliados foram desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade), escore de lesão intestinal e rendimento de carcaça. A introdução da inoculação do *Clostridium Perfringes* e o uso da soja integral não desativada promoveu desafios sanitários e nutricionais semelhantes aos que podem ser encontrados nas indústrias avícolas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Microbiota intestinal

Em se tratando das aves, muitos autores indicaram que a microbiota pode ser introduzida no TGI logo após a eclosão (Van der Wielen et al., 2002). Porém, ultimamente pesquisas têm apontado que os microrganismos podem ser introduzidos no sistema digestório na fase anterior à eclosão. É de conhecimento que a casca do ovo é porosa e possivelmente permite a passagem de microrganismos do ambiente externo para o interior do ovo. Por volta do décimo quinto dia de desenvolvimento, o embrião começa a ingerir o líquido amniótico presente no interior do ovo para finalizar o terço final da incubação (Gonzales & Cesario, 2003). A ingestão de microrganismos pode ser iniciada nesse ponto. Pedroso et al. (2005) determinaram através de metodologias moleculares que pintos de corte neonatos no momento que chegam à granja de criação apresentam uma considerável microbiota presente no trato intestinal. Essa microbiota pode ser introduzida na fase pré-eclosão e também no incubatório durante o manuseio e transporte das aves até o local de criação. Na primeira semana de vida dos pintos há predominância de enterococcos e lactobacilos no estômago e intestino delgado. Portanto, para a manipulação da microbiota por meio de promotores de crescimento alternativos, como probióticos, deve-se considerar esse fato.

Lorençon et al. 2007 afirmaram que para uma boa eficiência, deve-se utilizar os probióticos já nos primeiros dias de vida, para que ocorra a exclusão competitiva, principalmente beneficiando um bom equilíbrio entre os microrganismos benéficos e para se obterem, assim, melhores resultados. Para colaborar com esta afirmação precisamos avaliar criteriosamente em qual momento temos os maiores desafios sanitários e nutricionais, desse modo saberemos qual a melhor idade para que o uso do probiótico promova uma ação eficiente.

Nurmi & Rantala (1973) administraram oralmente o conteúdo intestinal (com uma diluição de 1:10) de aves adultas normais a pintinhos de 1 a 2 dias de idade e preveniram a colonização intestinal por *Salmonella infantis*, ou seja, a administração deste produto permitia uma rápida colonização da mucosa intestinal e aumentava a resistência dos pintinhos contra *Salmonella spp.* O estudo resultou em proteção a 77% das aves, enquanto que a infecção foi 100% nas aves controle. Nos dois casos as aves foram desafiadas no dia seguinte à inoculação. Este procedimento foi denominado “conceito de Nurmi” ou Exclusão Competitiva (EC). A princípio, a ideia era só a proteção intestinal contra enteropatógenos sem verificar aspecto de saúde geral e produtividade animal.

O trato gastrointestinal possui regiões definidas, os diferentes compartimentos do trato podem ser identificados como diferentes macrohabitats (Mackie et al., 1999). Diferentes microbiotas são encontradas nestas regiões devido a sutis diferenças no pH, na secreção enzimática da região, na velocidade de trânsito bolo alimentar e até na concentração de ácidos graxos voláteis. Entre cada macrohabitat pelo menos quatro microhabitats são descritos: o lúmen intestinal, o muco, a cripta intestinal e a superfície da mucosa (Pedroso et al., 2005). Em virtude das diferenças nos macrohabitats e microhabitats, possivelmente os microrganismos fornecidos

com finalidade promotora do crescimento não têm a capacidade de colonizar o trato intestinal de maneira uniforme. Portanto, o número e composição dos microrganismos da microflora intestinal das aves variam consideravelmente ao longo do TGI. O pH no próventrículo e moela é extremamente baixo, e poucas bactérias são capazes de tolerar este ambiente. No duodeno, o pH é neutro e os microrganismos colonizam facilmente este segmento do intestino delgado, bem como o jejuno e o íleo. O ceco é reconhecido como segmento de maior colonização de microrganismos, sendo que um grande número de bactérias gram-negativas e gram-positivas estão presentes neste local (Macari e Furlan, 2005).

Bactérias chamadas nativas são aquelas que co-evoluem com a população e colonizam o habitat do trato gastrintestinal, enquanto as não nativas podem colonizar microhabitats específicos, sendo derivadas do alimento, da água ou de outros habitats intestinais e não colonizando todo o trato. Portanto, alguns microrganismos se estabelecem, enquanto outros são transitórios, entram com o alimento, passam através do tubo digestivo e saem. A colonização ocorre quando a população de bactérias no TGI atinge um tamanho estável com o passar do tempo sem a necessidade de reintrodução (Gaskins, 2001). Essas bactérias colonizam em taxas que igualam ou excedem suas taxas de passagem e, ou de eliminação intestinal.

As bactérias que habitam o trato intestinal podem se estabelecer de duas formas: em íntima associação com o epitélio intestinal ou livre no lúmen intestinal, mas multiplicando-se mais rapidamente do que sua eliminação pelo peristaltismo intestinal (Andreatti & Silva, 2005). Outras bactérias não apresentam capacidade de aderir ao epitélio intestinal, tampouco se multiplicam em tempo que compense a eliminação pelo peristaltismo, mas permanecem no intestino agregando-se a outras bactérias, que por sua vez estão aderidas à mucosa entérica (Andreatti & Silva, 2005). Portanto, aderência à mucosa intestinal parece o mecanismo chave da colonização das bactérias patogênicas e de seus efeitos nocivos sobre a saúde intestinal. Assim, processos que possam prevenir a aderência das bactérias são eficazes em reduzir a colonização por patógenos nos segmentos do trato gastrintestinal.

Mecanismo de ação e características dos probióticos

Segundo Andreatti Filho e Silva (2005) existem quatro grandes propostas quanto ao mecanismo de ação dos probióticos:

- Exclusão competitiva;
- Produção de substâncias antibacterianas (bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio);
- Competição por nutrientes no lúmen intestinal;
- Estímulo ao sistema imune.

Estes mecanismos contribuem com a manutenção da integridade da mucosa e melhoram a saúde intestinal dos animais. Os microrganismos vivos são a matéria-prima dos probióticos. Dessa forma, o isolamento e a caracterização da bactéria do trato gastrintestinal é uma das etapas cruciais para que se possa avançar no processo de produção de qualquer probiótico. Estas bactérias têm que sobreviver a várias fases, desde os tratamentos na produção, passando pelas condições de armazenamento, até à tolerância às condições do corpo animal.

Segundo Andreatti Filho e Silva (2005), são propriedades mais

desejáveis para um probiótico:

- Possibilidade de permanecer no ecossistema intestinal;
- Capacidade de beneficiar o hospedeiro animal pelo seu uso;
- Possibilidade de ser produzido em larga escala e de maneira

viável;

- Probabilidade de ser estocado e manter sua viabilidade até o momento de uso.

A sensibilidade aos antibióticos também pode ser uma característica desejável, descartando assim, a possibilidade de transmissão de resistência no ecossistema digestivo e maior facilidade de eliminação do bioterapêutico, se necessário.

Também existem alguns fatores como peletização das rações, número e viabilidade de microrganismos, armazenamento, formas de administração e condições de criação que podem afetar a eficiência dos probióticos.

A maioria dos microrganismos são termosensíveis e podem ser destruídos pela peletização das rações. A utilização de cepas termoestáveis pode ser uma alternativa para a utilização de rações peletizadas. Eyng et al. (2006) realizaram experimento para avaliar o efeito da utilização de probióticos, em rações fareladas e peletizadas sobre o desempenho de pintos de corte de 1 a 21 dias de idade, criados sobre cama reutilizada e verificaram que a utilização de probióticos, independente da forma física e processo térmico da ração, apresentou resultados semelhantes de desempenho nos índices de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, conforme tabela adaptada de Eyng et al. (2006):

Tabela 1. Ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar de 1 a 21 dias de idade.

	Ganho de peso		Consumo de ração		Conversão alimentar	
	RF	RP	RF	RP	RF	RP
PA	882,02	849,39	1171,5	1130,4	1,26	1,26
PB	872,10	849,66	1158,7	1149,4	1,26	1,28
C	848,34	849,57	1143,3	1148,0	1,28	1,28
CV%	4,49	4,66	2,42	4,16	1,42	1,69

RF- Ração farelada

RP- Ração peletizada

PA- Probiótico A (*Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus fecium*, *Bifidobacterium bifium* 2Kg/ton)

PB- Probiótico B (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* 2 kg/ton)

C- Controle (flavomicina 0,004Kg/ton)

Nishio et al. (2006) realizaram um experimento para avaliar a estabilidade de um probiótico durante o tempo de criação de frango de corte. Para isso os autores selecionaram amostras de *Lactobacillus* isolados de cama de frango (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. delbrueckii*) para a produção do probiótico. Após a adição do probiótico à ração, esta foi armazenada a temperatura ambiente, protegida da exposição solar e umidade. A cada

semana foi realizada contagem total dos lactobacilos em cada ração durante 42 dias. Os autores observaram queda significativa na UFC/g de ração até os 42 dias, porém ainda se encontravam dentro dos valores utilizados em rações comerciais, não comprometendo o tratamento e possivelmente o desempenho das aves.

Probióticos x antibióticos

O ambiente no qual os animais são criados afeta a microbiota intestinal. Frangos criados em piso sob cama podem apresentar microorganismos diferentes dos criados em baterias, devido às condições de acesso ao material da cama e ingestão de partículas da excreta. Fome, sede e fatores ambientais estressantes como temperaturas altas também afetam a flora intestinal das aves. Por isso, os probióticos podem surtir efeitos diferentes em diferentes tipos de criação.

Nesse sentido, Nunes et al. realizaram um estudo para avaliar o efeito do uso de promotores de crescimento (antibióticos e probióticos) nas dietas sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte de 1 a 42 dias criados em cama nova ou reutilizada. Os autores concluíram que o uso de probióticos e antibióticos nas rações para frangos de carne não afeta o desempenho das aves criadas em cama nova ou reutilizada. O uso de probióticos promove redução no consumo de ração sem comprometer o desempenho, independentemente do tipo de cama utilizada. Resultado contraditório ao de Traldi et al. (2007) que concluíram que o uso de probiótico não promove efeito benéfico para frangos de corte criados sobre a cama reutilizada.

Jin et al. (1998), em estudo com frangos de corte, para investigar o efeito de uma mistura de *Lactobacillus* sobre o desempenho das aves criadas em temperatura quente (média de 30,1°C) e umidade relativa em torno de 95% (condições consideradas estressantes para as aves), demonstraram maior eficiência em relação às aves de controle tanto no ganho de peso quanto na conversão alimentar, quando foram adicionados *Lactobacillus*. A ausência de efeito do probiótico pode estar relacionada com as condições sanitárias, pois, não tendo bactérias patogênicas para um desafio, o probiótico também não tem como realizar exclusão competitiva.

Loddi et al. (2000) realizaram um experimento cujo objetivo principal foi avaliar os efeitos do uso de probiótico, constituído do ingrediente ativo *Enterococcus faecium* (1×10^{10} UFC de produto), e a associação deste com o antibiótico avoparcina, na alimentação de frangos de corte, avaliando-se o desempenho (peso, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar) e a mortalidade, o rendimento de carcaça, carne de peito e de pernas e a análise sensorial da carne do peito e da perna. No período de 1 a 21 dias e 1 a 42 dias de idade, a suplementação com probiótico influenciou negativamente o peso corporal, ganho de peso e consumo de ração das aves. Os autores acreditam que o efeito sobre o desempenho dos tratamentos que receberam suplementação do probiótico pode ser consequência da criação das aves em instalações novas, com ótimas condições profiláticas, não constituindo, portanto, uma situação de desafio. Assim, a microbiota intestinal teria se desequilibrado com a suplementação do *Enterococcus faecium* em quantidade acima da que normalmente é encontrada no trato digestório. Desse modo, o microrganismo que deveria promover o crescimento tornou-se um agente

“infectante” e, provavelmente, deprimiu a metabolização e absorção dos nutrientes e, como consequência, o desempenho da ave. Segundo os autores, estima-se que 90% da microflora seja composta por bactérias facultativas (aeróbicas e anaeróbicas) e produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*), incluídas as bactérias exclusivamente aeróbicas como os *Bacterioides spp*, *Fusobacterium spp* e *Eubacterium spp*. Os 10% restantes desta flora são constituídos de bactérias consideradas nocivas ao hospedeiro, entre elas, *Escherichia coli*, *Clostridium spp*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Blatomyces spp*.

Lima et al. (2003) realizaram um estudo com o objetivo de verificar o desempenho e também quantificar as atividades das enzimas digestivas: amilase, lipase e tripsina pancreática e intestinal, de frangos de corte submetidos a diferentes níveis de energia e a diferentes doses de probiótico na ração. A ração fornecida foi à base de milho e farelo de soja, com dois níveis energéticos: 3.200 e 2.900 kcal de EM/kg e três níveis de probiótico o (Calsporimã BS – FATEC®, contendo 10^{10} células viáveis esporuladas de *Bacillus subtilis* por grama de produto), sendo adicionados: 0, 200 e 400 ppm nas fases inicial (0 a 28 dias) e final (29 a 42 dias). Os resultados obtidos no estudo mostraram que a adição de probiótico (*Bacillus subtilis*), na dieta de frangos de corte, não compromete o desempenho e nem a atividade das enzimas digestivas analisadas.

Para se avaliar a eficiência dos promotores de crescimentos geralmente estudam-se os índices zootécnicos, características de desempenho e características morfológicas dos órgãos. Lora et al. (2006) realizaram experimento com o objetivo de avaliar o desempenho de frangos de corte que receberam rações contendo *Bacillus subtilis* ou avilamicina. Não houve diferença nos resultados de ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade entre os tratamentos que continham probiótico em alta concentração e avilamicina. O autor concluiu que o probiótico pode ser adicionado em rações de frangos de corte em substituição ao antibiótico proporcionando o mesmo desempenho das aves.

Meurer et al. (2010) realizaram um trabalho para avaliar o uso do probiótico *Bacillus subtilis* (10^{10} ufc/g) em dietas contendo ou não promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade. O experimento continha 5 dietas: controle negativo (sem promotores); *Bacillus subtilis* (30 g/t de ração); *Bacillus subtilis* (50 g/t de ração); *Bacillus subtilis* (30 g/t de ração) + de colistina (10 ppm); avilamicina (10 ppm) + colistina (10 ppm) Para conversão alimentar, os melhores resultados foram obtidos com as dietas contendo probiótico (50 g/t ração), probiótico (30 g/t ração) + colistina e combinação de avilamicina + colistina. Na análise do índice de eficiência produtiva aos 42 dias, os melhores resultados foram obtidos com as dietas contendo aditivos (probióticos e/ou antibióticos) em comparação à dieta controle. Os autores concluíram que o probiótico *Bacillus subtilis*, na concentração 10^{10} UFC/g, é um substituto eficiente de antibióticos.

Na tentativa de esclarecer questões como: qual a verdadeira contribuição dos antibióticos, como promotores de crescimento, no desempenho de frangos de corte, e qual a possibilidade de substituição destes aditivos na ração, Zuanon et al. (1998) realizaram uma pesquisa com o objetivo

de comparar o desempenho de frangos de corte alimentados com rações que continham antibiótico ou probiótico, bem como o uso desses dois promotores de crescimento juntos na mesma ração e o uso sequencial destes, com o antibiótico sendo usado na fase inicial e o probiótico na fase final. Os promotores de crescimento adicionados nas rações foram o antibiótico Avoparcin Feed Intermediate e o probiótico Toyocerin 50. O Avoparcin Feed Intermediate ou Avotan apresenta como ingrediente ativo o Avoparcin, que é um antibiótico glucopeptídico e praticamente não é absorvido pelo trato intestinal. Este antibiótico ataca apenas bactérias gram-positivas. O Toyocerin é um probiótico que tem como ingrediente ativo esporos de *Bacillus toyoi*, isolados do solo. Este probiótico ajuda a manter normal a flora bacteriana intestinal, suprimindo o crescimento de *E. coli* e, paralelamente, aumentando a população de *Lactobacillus*. Cada 1 kg de Toyocerin 50 contem 50g de Toyocerin 1×10^{10} esporos de *Bacillus toyoi*. No período de 1 a 21 dias de idade dos frangos, as análises estatísticas indicaram que o tratamento Avoparcin 10 ppm foi significativamente melhor ($P < 0,05$) que o tratamento-testemunha, para as variáveis peso, ganho de peso e conversão alimentar, não sendo observado efeito dos tratamentos para o consumo de ração. Não foram observados efeitos de tratamentos sobre as variáveis estudadas, nos períodos de 22 a 42 e de 1 a 42 dias de idade dos frangos. Os resultados deste experimento mostram que os antibióticos usados como promotores de crescimento apresentam maior estímulo no crescimento das aves, na fase inicial, e que as diferenças de peso atribuídas a ganhos adicionais desaparecem posteriormente. Segundo os autores, isto sugere que a utilização de promotores de crescimento é dispensável, na criação de frangos de corte, porém deve-se ressaltar que muitas vezes as condições sanitárias e de manejo observadas em criações comerciais não são as mesmas das condições experimentais.

Corrêa et al. (2003) realizaram um experimento com o objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de dois probióticos e um antibiótico na alimentação de frangos de corte sobre características de desempenho e de carcaça. Os tratamentos constaram de: grupo testemunha - alimentado com dieta inicial (DI) até 20 dias de idade e dieta final (DF) até 40 dias de idade; grupo probiótico - *Bacillus subtilis* (1×10^{12} UFC/kg) alimentado com DI + 0,02% do probiótico *Bacillus subtilis* (1×10^{12} UFC/kg) na fase inicial e DF + 0,02% do probiótico *Bacillus subtilis* (1×10^{12} UFC/kg) na fase final; grupo poliprobótico aves - alimentado com DI + 2,0% do poliprobótico aves na fase inicial e DF + 0,63% do poliprobótico na fase final; grupo bacitracina de zinco - alimentado com DI + 0,013% do antibiótico bacitracina de zinco na fase inicial e DF + 0,013% do antibiótico na fase final. Os frangos alimentados com dietas com poliprobótico no período inicial de 1 a 20 dias tiveram melhor conversão alimentar do que os alimentados com as dietas testemunha ou que continha bacitracina de zinco. Os resultados de desempenho para a fase final e para o período total de criação mostram que as variáveis consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar não foram afetados ($P > 0,05$) pelo uso de antibiótico ou probióticos na ração. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Zuanon et al. (1998), Loddi et al. (2000). Os resultados indicam a possibilidade de substituição do antibiótico bacitracina de zinco como promotor de crescimento por probiótico, mantendo os mesmos padrões de desempenho

das aves, evitando os riscos de presença de resíduos de antibióticos na carcaça. Quanto às características de carcaça não foram observadas diferenças entre tratamentos ($P>0,05$) quanto ao peso vivo e pesos e rendimentos da carcaça, do peito e da gordura abdominal.

Utilização precoce de probióticos

Também existem alguns trabalhos avaliando a inoculação de probiótico em ovos embrionados. Em pesquisa com ovos incubados em incubadoras contaminadas por *Salmonella Typhimurium* e com a administração de um probiótico (base de *Lactobacillus reuteri*) via ovo, Edens et al. (1997) observaram que no momento da eclosão os pintos oriundos de ovos inoculados com probiótico apresentaram redução de 99% da população cecal de *Salmonella Typhimurium* em relação ao grupo não tratado com probiótico.

Leandro et al. (2010) realizaram um trabalho onde objetivou-se avaliar o efeito de um probiótico comercial (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum*, 10^6 UFC/g) inoculado em ovos embrionados de frangos de corte sobre desempenho inicial, digestibilidade dos nutrientes da ração e presença da *Salmonella Enteritidis* no sistema gastrointestinal. Com base nos resultados obtidos nos experimentos, pode-se inferir que o probiótico não proporcionou melhores resultados no desempenho ou na digestibilidade dos nutrientes da ração quando os frangos não foram submetidos a desafio microbiológico. Já quando as aves foram submetidas ao desafio precocemente (pós-eclosão) e o probiótico fornecido somente após o alojamento das aves, na ração, os resultados de redução da salmonela no trato gastrointestinal de pintos (após 21 dias de idade) mostraram que a população de bactérias benéficas do probiótico necessitou de um tempo para se estabelecer. No entanto, quando administrado no ovo antes de as aves serem submetidas ao desafio por salmonela (logo após a eclosão), o probiótico foi capaz de proporcionar aos pintos desafiados melhor desempenho e redução na capacidade da salmonela em colonizar o trato gastrointestinal. Na avicultura moderna, a maioria das grandes agroindústrias realiza a vacinação in ovo no 18º dia de incubação, no momento de transferência dos ovos para o nascedouro. O trabalho de Martins et al. (2010) avaliou o desempenho zootécnico de frangos de corte submetidos a diferentes vias de aplicação de probiótico. Os tratamentos foram: T1: pintos provenientes de ovos vacinados in ovo no 18º dia de incubação contra a doença de Marek; T2: pintos provenientes de ovos inoculados com probiótico no 18º dia de incubação utilizando como diluente a vacina de Marek; T3: pintos provenientes de ovos vacinados in ovo no 18º dia de incubação contra a doença de Marek e pulverizados após a seleção com solução contendo probiótico. O probiótico utilizado possui em sua composição flora definida com 21 cepas. O trabalho concluiu que o uso de probiótico nas diferentes vias de aplicação não alterou o desempenho zootécnico de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Interferência de fatores nutricionais e sanitários

A manipulação dos componentes da dieta pode afetar de maneira significativa a diversidade e atividade da microbiota do TGI de monogástricos. Ainda existe dificuldade em se estudar o efeito da nutrição sobre a microbiota devido à grande variedade de fatores que podem afetá-la. É preciso lembrar que existem diversos fatores antinutricionais de alguns ingredientes que podem afetar fisiologicamente as aves e prejudicar a digestão e absorção da dieta.

O farelo de soja é, sabidamente, um dos principais ingredientes da dieta de monogástricos. Quando em seu estado integral não tostado, mal processado ou de baixa qualidade, possui fatores antinutricionais importantes que fazem com que a dieta seja má absorvida. Vejamos alguns citados por Tejedor et al. (2001):

- inibição de protease: redução da atividade da tripsina, retardo no crescimento animal, hipertrofia/hiperplasia pancreática, danos a parede celular da mucosa, estímulo a resposta imune, aumento das perdas de nitrogênio endógeno.

- inibidor de amilase: problemas na digestão do amido.

- proteínas antigênicas: alterações na resposta imune e na integridade da mucosa intestinal.

- saponinas: alterações na permeabilidade intestinal.

- fitatos: formação de complexos com minerais e proteínas, redução da absorção de minerais.

Somando-se a isto, os métodos tradicionais para identificação de bactérias do trato intestinal, que incluem várias técnicas de cultura como isolamento bacteriológico, testes bioquímicos e exames morfológicos, demandam tempo e trabalho. Além disso, algumas técnicas só permitem o crescimento do microrganismo em meios seletivos, onde só cresceriam as bactérias que teriam capacidade de ser cultivadas em meio artificial. Possivelmente a comunidade intestinal inclui centenas de bactérias, e acima de 75% das espécies intestinais não são representadas quando se utilizam técnicas baseadas em cultivo (Pedroso et al., 2005).

Para contornar este inconveniente têm sido sugeridas algumas técnicas moleculares simples, que não necessitam de cultivo "*In Vitro*" para identificação dos microrganismos do trato intestinal. Destaque para o método Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e determinação de sequências de DNA e RNA de bactérias (Pedroso et al., 2005).

Outro fator importante que afeta diretamente os resultados de desempenho das aves são os desafios sanitários impostos pelas condições das nossas criações. Os lotes rotineiramente são criados em camas reutilizadas, com grande carga microbiológica, deixando as aves expostas a severos desafios contra doenças como coccidiose e clostridiose.

O *Clostridium perfringens* é responsável por diversas enteropatias que comprometem a integridade intestinal, destacando-se a enterite necrótica. Esta enfermidade é considerada de suma importância no cenário da avicultura nacional e mundial sendo responsável por perdas econômicas consideráveis na produção. Sluis (2000) estimou que nos Estados Unidos o custo decorrente da enterite necrótica, por ave, chegou a US\$ 0,05, o que pode representar prejuízo de até 33% na produção. Este prejuízo foi estimado por gastos com medicamentos, aumento da conversão alimentar, redução do peso vivo e por aumento no número de carcaças condenadas durante o abate devido a colangio-hepatite, além do aumento na mortalidade.

Fatores e/ou enfermidades imunossupressoras também aumentam a susceptibilidade das aves. Nestas situações o *Clostridium perfringens* libera grande quantidade de toxinas que lesam a mucosa intestinal e o fígado, causando grandes prejuízos ao sistema de produção. A doença é de evolução rápida e muitas vezes apresenta-se de modo agudo, ocasionando aumento de

mortalidade do lote, sem apresentar sinais específicos, podendo ser clínica ou subclínica (Silva et al., 2008). A clostridiose pode ser controlada ou prevenida pela redução da exposição ao risco de fatores como a coccidiose e a dietas desbalanceadas e/ou com maior inclusão de alguns tipos de ingredientes. Alterações na composição do alimento, tais como, a remoção a partir da dieta de alimentos de difícil digestão que prolongam a fermentação intestinal e o uso de probióticos e ou antibióticos promotores de crescimento na ração para frangos tem sido medidas comuns.

As vacinas vivas contra coccidiose utilizadas atualmente na avicultura provocam um determinado dano tecidual no intestino que não pode ser recuperado no intervalo de tempo curto de vida do frango de corte, por isso não são habitualmente utilizadas para estas aves.

HIPÓTESE E OBJETIVOS

O estudo trabalha com a hipótese de que uso de probiótico a base de *Bacillus subtilis* suplementado em rações de frangos de corte na concentração de 1×10^{10} UFC / g de ração promoverá melhor desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte sob desafio sanitário e nutricional.

Os objetivos deste trabalho foram:

- avaliar o efeito da suplementação do probiótico à base de *Bacillus subtilis* no desempenho zootécnico de frangos de corte alimentados com dietas de má-absorção e inoculados com *Clostridium prefringens*,

- avaliar o efeito da suplementação do probiótico no escore de lesão intestinal de frangos de corte alimentados com dietas de má-absorção e inoculados com *Clostridium prefringens* e

- avaliar o efeito da suplementação do probiótico no rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas de má-absorção e inoculados com *Clostridium prefringens*.

CAPÍTULO II
Growth performance of broilers supplemented with *Bacillus subtilis* probiotic¹

¹Artigo elaborado conforme as normas da Brazilian Journal of Poultry Science (Apêndice 1).

Growth performance of broilers supplemented with *Bacillus subtilis* probiotic

André Luiz Ghiotti¹, Sergio Luiz Vieira¹, Heitor Vieira Rios¹, Catarina Stefanello¹,
Barbara Mallmann¹, César Pontin¹

¹*Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, Brazil 91540-000*

Section: Nutrition

Primary Audience: Nutritionists, researchers

Key Words: *Bacillus subtilis*, broilers, probiotic, raw soybean

*Corresponding author: andre.ghiotti@gmail.com

A.L. Ghiotti

Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Avenida Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, 91540-000, Brazil

Phone/FAX: 55 51 3308 6048.

ABSTRACT

In order to change the antibiotics as growth promoter, there are products been used at non-ruminants feeding, as probiotics. This study aimed to evaluate the effect of a probiotic composes with *Bacillus subtilis*, on minimum concentration of 1×10^{10} UFC / g of diet, on the performance, intestinal lesion scores, and carcass yield evaluation of broilers. A total of 2,016 Cobb 500 male broilers were housed in a completely randomized design with 8 treatments, 9 repetitions of 28 birds each. The following diets were provided: diet based on corn and soybean meal (Regular); diet malabsorption (6 % raw soybean); six diets malabsorption: diet malabsorption + coccidiosis vaccine with and without inoculation of birds with *Clostridium perfringens*, diet malabsorption + probiotic with and without inoculation with *Clostridium perfringens*, diet malabsorption + coccidiosis vaccine + probiotic and diet malabsorption + coccidiosis vaccine 10X + probiotic + *Clostridium perfringens* . The worst feed conversion ratio was observed on birds that received the diet containing diet malabsorption + *Clostridium perfringens* + coccidiosis vaccine without probiotic ($P < 0.05$). The treatments did not have relevant effect on intestinal lesion scores. The carcass yield did not differ between treatments ($P > 0.05$). It was observed that the treatments they received probiotic added in the feed obtained result similar to that received the regular diet, regardless of inoculation of *Clostridium perfringens*, with the exception of the treatment that has been challenged with a dose 10 x coccidiosis vaccine. Therefore, the use of probiotics reduced the negative effects of nutritional and health challenge.

INTRODUCTION

The advanced technology employed in the poultry industry has increased the

productivity of broilers. However, stress factors as high density of animals housed, vaccination, variations in temperature, and nutritional challenges can induce problems on intestinal microflora of the birds, which may reduce its productive performance. In addition, in the face of constant pressure from consumer and legislators groups to the abandonment/replacement of the use of traditional antibiotics as growth promoters in animal feed, it becomes necessary to the consistent study of the introduction of alternatives which allow the maintenance of current levels of performance and profitability poultry sector. We know that in the default of gastrointestinal bacteria, due to the presence of antibiotics in the diet, the need for the recruitment of immune cells into the intestines is reduced and consequently, animal performance is improved. In this context that fit the products of microbial origin, such as probiotics, since the withdrawal of antibiotics will surely cause serious damage to the performance of the birds. However, it is important to remember that there's a positive list of active ingredients (antimicrobials, agonists and anticoccidians) released by the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) for use in the diet of animals. This document contains, in addition to the active ingredients, the species, and production phases in which can be used, allowed dosages and grace period (deadline for withdrawal before slaughter). Currently the MAPA allows the presence of only one antimicrobial and/or one anticoccidiano in the composition of the diets. To formulate a diet with nutritional and physiological characteristics that the animal needs we should know the microorganisms that will be involved with the health condition of the flocks. The set of micro-organisms (microbes) that colonize the gastrointestinal tract (GIT) of non-ruminants animals has key role in nutrition, performance, product quality, and the welfare of the same. Bacteria adhere to the intestinal epithelium by connecting polysaccharides present in its membrane with the glycocalyx (or loose) of the intestinal

mucosa. The adhesion to the intestinal mucosa seems, therefore, the key mechanism of bacterial colonization, and its effects on intestinal health.

Soon after hatching, the avian gastrointestinal tract is colonized by microorganisms, some beneficial and other pathogens. The beneficial microbiota assists in the digestion and absorption of nutrients, produces vitamins that will be used by the host (vitamin K, for example) and decreases, by competitive exclusion, the proliferation of pathogenic agents (Nurmi & Rantala, 1973). Harmful microbes can cause inflammation in the intestinal mucosa, produce toxins, and propitiate the appearance of disease.

Gonzales & Cesario (2003) related that around the fifteenth day of development, the embryo begins to swallow amniotic fluid present inside the egg to complete the final third of incubation. The ingestion of microorganisms can be initiated at this point.

According to Fuller (1989), probiotic is a food supplement made up of live microorganisms able to benefit the host through the balance of the intestinal microbiota. Among the main microorganisms used as probiotics, are from the genera *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, and levedures.

The *Bacillus subtilis* is a species of gram-positive bacterium, common saprophyte soil and water. Is an organism, pathogen not sporulated and termofilic. Thus this microorganism is able to resist the high temperatures that may occur in feed processing. The *Bacillus subtilis* is considered passing bacteria of intestinal mucosa and that promotes an adequate means for growth and colonization of the epithelium by other beneficial microorganisms.

The mode of action of probiotics is not yet completely understood, although they have been suggested multiple processes that can act independently or associates. One of them is the competitive exclusion (concept of Nurmi), in that the agent that compose the

probiotic would compete with the pathogens for nutrients and fixing sites, preventing the action transiently (Nurmi & Rantala, 1973). The competitive exclusion explain the need for the continued administration and high doses of probiotics, to manifest their effects (Coppola & Gil-Turnes, 2004). Probiotics may also affect pathogens through the synthesis of bacteriocins, of organic acids, and hydrogen peroxide, or act on cellular metabolism, reducing the concentration of ammonia in the body and releasing enzymes such as lactase.

The objective of this study was to evaluate the impact of the addition of probiotic *Bacillus subtilis* base (1×10^{10} cfu/g of feed) in broiler diets formulated with corn, soybean meal, and not disabled soybeans provided to birds inoculated or no with *Clostridium Perfringens*. The evaluated parameters were growth performance (weight gain, feed intake, feed conversion and mortality), intestinal injury score, and carcass yield. The introduction of coccidiosis vaccine, inoculation of *Clostridium Perfringes*, and the use of integral soybeans not toast promoted challenges health and nutritional similar to those that can be found in the poultry industries.

MATERIALS AND METHODS

All procedures used in this study avoided unnecessary animal discomfort and were approved by the Ethics and Research Committee of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Ingredients

Corn - soybean meal all vegetable diets following Brazilian industry usual levels of nutrients and energy. Levels are presented on Table 1.

Treatments

The experiment was consisted of 8 treatments with 9 replicates of 28 birds each. A four-phase feeding program (Pre-Starter - 1 to 7 days, Starter - 8 to 21 days, Grower - 22 to 35 days, Finisher - 36 to 42 days) was use. A commercial type probiotic (*Bacillus subtilis* at 1×10^{10} CFU/g of feed) added to the diets throughout all the experimental period at 100 g/ton of diet in treatments 5, 6, 7 and 8. Diets were being formulated with corn, soybean meal, and integral soybean toast (Regular) or having 6% of integral soybeans not toast (Malabsorption) in the feeds of all phases. The integral soybeans not toast promoted the nutritional challenge. Diets are presented on Table 1.

On day 8, all birds of the treatments 3, 4, 7, and 8 were being oculars vaccinated with coccidiosis vaccine. *Clostridium perfringens* at colony forming units (CFU) of $1,5 \times 10^{12}$, $3,5 \times 10^{12}$, and $5,0 \times 10^{12}$ CFUs were being orally inoculated on days 13, 14, and 15 days, into individual birds, in the treatments T4, T6, and T8 respectively. The coccidiosis vaccine and the inoculation of *Clostridium perfringens* promoted the health challenge.

Treatments:

T1 – Regular diet

T2 – Malabsorption (MA) diet

T3 – Malabsorption diet (MA) + coccidiosis vaccinated

T4 – Malabsorption diet (MA) + coccidiosis vaccinated + *Clostridium perfringens*

T5 – Malabsorption diet (MA) + probiotic

T6 – Malabsorption diet (MA) + probiotic + *Clostridium perfringens*

T7 – Malabsorption diet (MA) + coccidiosis vaccinated + probiotic

T8 – Malabsorption diet (MA) + coccidiosis vaccinated 10 X (ocular inoculated at day 8) + probiotic + *Clostridium perfringens*

Birds and facilities

A total of 2,016 Cobb X Cobb 500 male broilers were being placed in 72 experimental boxes (1.65 x 1.65 m – 9.18 bird per m²) containing one bell drinker and one tubular feeder with 18 kg feed capacity. Birds were being vaccinated for Marek's disease at the hatchery. No other vaccine was being used. Environmental temperature was controlled to maintain bird comfort with the use of a furnace heater, fans, and foggers. Ambient temperature was adjusted to 32°C on the first day, being reduced by 1°C every two days until comfort temperature is reached. Birds were being placed on rice hulls bedding.

Experimental Diets

All diets were produced in a mixer with a capacity of 400 kg. The mixer has been cleaned and vacuumed between each type of feed. Diets were mash, exclusively vegetables, based on corn, soybean meal, and whole soybean (disabled by heat or not). The levels of energy and nutrients followed the suggestions of the Brazilian Tables for poultry and swine, Food Composition and nutritional requirements, 3^o ed. UFV, Viçosa, MG, Brazil (Rostagno, 2011).

Measurements

Body weight gain, feed intake, feed conversion, and mortality were being evaluated at 1, 7, 21, 35, and 42 days of age. Feed conversion was calculated as corrected and not corrected for the weight of dead birds. At 21 days of age 5 birds per pen were being randomly taken for intestinal lesion scores and were classified as standard table Elanco®. In this table, the scores are classified in three crescents levels of intestinal lesions (1, 2, and 3). Five birds were being randomly taken from each pen and processed at 43 days for carcass yield evaluation. Responses were being recorded on a form individually available for all boxes. Data were being immediately fed into an

Excel spreadsheet. Mortality was evaluated daily and the feed conversion calculated with the correction of the weight of dead animals.

Statistical analysis

Treatments were being distributed in a completely randomized design with eight treatments and nine replicates of 28 birds per experimental unit. Statistical analyzes were being performed using SAS (2001).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 indicates, analyzing ages for periods, which only until 21 days of age occurred statistical differences among the effect of the treatments for weight gain. With advantage, at the end of the 21 days, for T1 (regular diet) when compared to T4 and T8. Therefore, in this comparison (T1 against T4 and T8), the diet of the T4 without probiotic and T8 with 10 x the dosage of coccidiosis vaccine had the worst results in this period for weight gain. In the remaining periods of age the weight gain was similar among treatments. This suggests that in the critical phase of infection by *Clostridium perfringens* the probiotic promoted some type of benefit to the health of birds.

Table 3 shows the effects of the treatments on weight gain accumulated between 1 and 42 days of age. The regular diet, as expected, presented the best weight gains during every week. At the end of the 42 days, T5 (MA diet + probiotic), T6 (MA diet + probiotic *Clostridium perfringens*), and T7 (MA diet + probiotic coccidiosis vaccine), showed statistically weight gains similar to the regular diet (T1). Therefore, among the treatments with diets containing the probiotic, only T8 did not follow the regular diet weight gain. Probably because the challenge in the T8 (MA diet + 10 x coccidiosis vaccine + *Clostridium perfringens*) has been overly aggressive.

Table 4 shows the effects of the treatments on the feed intake. Statistical difference occurred among the treatments only in the period from 1 to 21 days accumulated, being a greater feed intake for the T1, T2, T3, T4, T5, T6, and T7, and significantly lower to T8 (MA diet + 10 x coccidiosis vaccine probiotic + *Clostridium perfringens*). In the weekly feed intake there was no statistical difference among the treatments.

Tables 5 and 6 describe that just the T4 diet supply (MA diet + coccidiosis vaccine + *Clostridium perfringens*) without probiotic obtained worst feed conversion than T1 regular diet. But all the birds that have received the MA diet, coccidiosis vaccine, and probiotic gained feed conversion statistically similar to regular diet at 42 days. Corrêa *et al.* (2003), concluded that the broilers fed with diets with probiotics during the initial phase (1 to 21 days) had better feed conversion than those fed with control diet or diet that contained zinc bacitracin.

Table 7 shows that there was no effect of the treatments on mortality during the experiment. Contrary to results found by Pelicano *et al.* (2004b) that in a study of the use of probiotics and prebiotics in broilers, noted better viability with the use of these additives in the diet.

The treatments had no significant effect on intestinal lesions scores. The scores were classified as standard table Elanco®. Remembering that the inoculation of *Clostridium perfringens* orally at 13, 14, and 15 days of age and the birds were necropsied to 21 days of age for evaluation. This result shows that the action of probiotics has been satisfactory in intestinal defense.

Lorençon *et al.* (2007), Faria *et al.* (2009), and Silva *et al.* (2011) evaluating the use of different growth promoters for broilers, did not observe any effect on any variable carcass yield, or percentage of abdominal fat with 42 days of age. However,

Rocha *et al.* (2010) observed greater yield of breast in broilers feed a diet supplemented with a mixture of probiotics, while the broilers feed with diet without growth promoter, to 43 days old, had less yield from this cut. The authors did not observe any effect of the use of growth promoters on the yield of thigh.

Loddi *et al.* (2000) observed interaction between probiotics and antibiotics for the carcass yield, obtaining the greatest value of this variable when there was no association among the use of the two growth promoters. For cutting yield, the authors found no effect of growth promoters. Abdominal fat was not influenced by the use of growth promoters.

Table 8 indicates that in the present study did not occur difference between treatments in the carcass yield. With respect to commercial cuts, only difference was observed in the cut of the tender ($P \leq 0.05$). The T6 (MA diet + probiotic + *Clostridium perfringens*) obtained the best yield of tender when compared to T8 (MA diet + 10 x coccidiosis vaccine + probiotic + *Clostridium perfringens*).

CONCLUSIONS

Results of researches with probiotics, so far, are contradictory as to their efficiency. It is important to conduct research on conditions that represent the real pressure of infection of poultry facilities, thus enabling to demonstrate more clearly the effectiveness of probiotics for productivity of birds.

This work showed that the use of probiotic reduced the negative effects of the nutritional and sanitary challenge, since their inclusion in the diet of the treatments that had these challenges made similar performance results to treatment with regular diet to 42 days of age of birds.

ACKNOWLEDGEMENTS

A.L. Ghiotti has been supported by a research grant from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brazil.

The authors acknowledge the partial funding from Bayer Animal Health.

REFERENCES

- Andreatti Filho RL, Silva EN. Probióticos e Correlatos na Produção Avícola. *Farmacologia Aplicada à Avicultura* 2005; 15:224-237.
- Copolla MM, Gil-Turnes, C. Probióticos e resposta imune. *Ciência Rural* 2004; 34:1297-1303.
- Corrêa, GSS, Gomes, AVC, Corrêa, AB, Salles, AS, Mattos, ES. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2003; 55:467-473.
- Faria DE, Henrique APF, Neto RF, Medeiros AA, Junqueira OM, Faria Filho DE. Alternativas ao uso de antibióticos promotores de crescimento para frangos de corte: 2. ácidos orgânicos e probióticos. *Ciência Animal Brasileira* 2009; 10:29-39.
- Fuller R. Probiotics in man and animals. *Journal Applied Bacteriology* 1989; 66:55 -61.
- Furlan RL, Macari M, Luquetti BC. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: 5º Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de corte e Nutrição, Balneário Camboriú 2004; 1:6-28.
- Gonzales E, Cesario MD. Desenvolvimento embrionário. *Manejo da Incubação, Facta* 2003; 1.3:52-64.
- Loddi MM, Gonzales E, Takita TS, Mendes AA, Roça RO. Uso de Probiótico e Antibiótico sobre o Desempenho, o Rendimento e a Qualidade de Carcaça de Frangos de Corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2000; 29:1124-1131.

- Lorençon L, Nunes RVN, Pozza PC, Pozza MSS, Appelt MD, Silva WMS. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. *Acta Scientiarum Animal Science* 2007; 29:151-158.
- Macari M, Furlan RL. Probióticos. In: Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas, Facta, Campinas, 2005; 1:53-72
- Nurmi E, Rantala M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. *Nature* 1973; 241: 210-211.
- Pelicano ERL, Souza RA, Souza HBA. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2004b; 6:231-236.
- Rocha AP, Abreu RD, Costa MCM, Oliveira GJC, Albinatti RCB, Paz AS, Queiroz LG, Pedreira TM. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 2010; 11:793-801.
- Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides PF. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais 3 ed. UFV, Viçosa, MG; 2011.
- Silva WTM, Nunes RV, Poza PC, Poza MSS, Appelt MD, Eyng C. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 2011; 33:19-24.

Table 1- Feed formulas used in the experiment.

Ingredients %	PRE-STARTER (1-7 dias)			STARTER (8-21dias)			GROWER (22-35dias)			FINISHER (36-42 dias)		
	T1	T2	T5	T1	T2	T5	T1	T2	T5	T1	T2	T5
		T3	T6		T3	T6		T3	T6		T3	T6
		T4	T7		T4	T7		T4	T7		T4	T7
		T8	T8		T8	T8		T8	T8		T8	T8
Corn 8,6%	52.07	52.07	52.07	53.13	53.13	53.13	57.11	57.11	57.11	63.92	63.92	63.92
Soybean Meal 45,2%	35.58	35.58	35.58	33.44	33.44	33.44	28.86	28.86	28.86	21.84	21.84	21.84
Soybean oil	1.88	1.88	1.88	3.16	3.16	3.16	3.96	3.96	3.96	4.29	4.29	4.29
Dicalcium Phosphate	2.05	2.05	2.05	1.93	1.93	1.93	1.84	1.84	1.84	1.77	1.77	1.77
Limestone	0.93	0.93	0.93	0.89	0.89	0.89	0.86	0.86	0.86	0.83	0.83	0.83
Salt	0.58	0.58	0.58	0.53	0.53	0.53	0.46	0.46	0.46	0.35	0.35	0.35
L-Treonine 98,5%	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Choline Chloride 60%	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.11	0.11	0.11
Vitamine premix* ¹	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Mineral premix* ²	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Sodium bicarbonate	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04	0.04	0.04	0.13	0.13	0.13
Inert (Kaolin)	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01
Probiotic	0	0	0.01	0	0	0.01	0	0	0.01	0	0	0.01
MHA 84%	0.39	0.39	0.39	0.38	0.38	0.38	0.33	0.33	0.33	0.27	0.27	0.27
BIOLYS 50,7%	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.26	0.26	0.26	0.3	0.3	0.3
Int. soybean not toast	0	6	6	0	6	6	0	6	6	0	6	6
Integral soybean toast	5.09	0	0	5.09	0	0	5.09	0	0	5.09	0	0
Soybean oil	0.91	0	0	0.91	0	0	0.91	0	0	0.91	0	0
Nutrients %												
AME (kcal/kg) ³		2950			3050			3150			3250	
Crude protein		22.8			21.92			20.15			17.52	
Calcium		1			0.95			0.9			0.85	
Av. P		0.5			0.47			0.45			0.43	
Sodium		0.25			0.23			0.21			0.19	
DEB, mEq/kg ⁴		225			215			200			180	
Choline, mg/kg		1600			1600			1500			1500	
Lysine		1.25			1.2			1.1			0.95	
Met + Cis		0.94			0.9			0.83			0.71	
Threonine		0.81			0.78			0.72			0.62	

*¹ Composition per kg of feed: vit. A, 8,000 UI; vit. D3, 2,000 UI; vit. E, 30 UI; vit. K3, 2 mg; thiamine, 2 mg; riboflavin, 6 mg; pyridoxine, 2.5 mg; cyanocobalamine, 0.012 mg; panthothenic acid, 15 mg; niacin, 35 mg; folic acid, 1 mg; biotin. ² 0.08 mg; iron, 40 mg; zinc, 80 mg; manganese, 80 mg; copper, 10 mg; iodine, 0.7 mg; selenium, 0.3 mg. ³ Apparent Metabolizable Energy.

⁴ Dietary Electrolytic Balance (Na + K – Cl) mEq/kg of the diet.

* T2, T3, T4, T5, T6 e T7: Malabsorption diets with 6% of crude soybean.

Table 2 - Effects of treatments on body weight gain from 1 to 42 days of age, g.

Treatments	1 to 7d	8 to 21d	22 to 35d	36 to
T1 – Regular diet	132 a	724 a	1.313	744
T2 – Malabsorption diet	122 b	655 ab	1.240	704
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	123 ab	646 ab	1.260	743
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	126 ab	618 b	1.277	688
T5 – Malabsorption diet + probiotic	122 b	672 ab	1.318	738
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	121 b	690 ab	1.306	714
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	123 ab	673 ab	1.270	754
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	123 ab	606 b	1.253	712
Mean	126	660	1.280	725
CV, %	5.32	8.77	7.01	14.51
Probability	0.0126	0.0013	0.4683	

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 3 - Effects of treatments on accumulated body weight gain from 1 to 42 days of age, g.

Treatments	1 to 7d	1 to 21d	1 to 35d	1 to 42d
T1 – Regular diet	132 a	857 a	2.171 a	2.915
T2 – Malabsorption diet	122 b	777 b	2.017 ab	2.709
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	123 ab	769 b	2.029 ab	2.772
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	126 ab	744 b	2.022 ab	2.711
T5 – Malabsorption diet + probiotic	122 b	799 ab	2.118 ab	2.856
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	121 b	812 ab	2.118 ab	2.832
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	123 ab	796 ab	2.067 ab	2.821
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	123 ab	729 b	1.983 b	2.696
Mean	126	785	2.066	2.789
CV, %	5.32	7.48	5.08	4.64
Probability	0.0126	0.0007	0.0041	0.0035

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 4 - Effects of treatments on accumulated feed intake from 1 to 42 days old, g.

Treatments	1 to 7d	1 to 21d	1 to 35d	1 to 42d
T1 – Regular diet	157	1.190 ab	3.435	4.980
T2 – Malabsorption diet	156	1.164 ab	3.393	4.918
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	155	1.162 ab	3.395	4.915
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	160	1.187 ab	3.446	5.003
T5 – Malabsorption diet + probiotic	156	1.220 a	3.473	5.048
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	153	1.176 ab	3.380	4.826
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	154	1.193 ab	3.454	5.023
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	151	1.104 b	3.265	4.791
Mean	155	1.174	3.405	4.938
CV, %	5,48	6.52	4.28	4.06
Probability	0,5162	0.1172	0.0987	0.0785

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 5 - Effect of treatments on feed conversion ratios corrected for the weight of dead birds.

Treatments	1 to 7d	8 to 21d	22 to 35d	36 to 42d
T1 – Regular diet	1.185 b	1.433 b	1.732	2.132
T2 – Malabsorption diet	1.285 a	1.561 ab	1.822	2.274
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	1.259 ab	1.561 ab	1.787	2.093
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	1.267 a	1.671 a	1.778	2.310
T5 – Malabsorption diet + probiotic	1.285 a	1.580 ab	1.723	2.215
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	1.260 ab	1.488 ab	1.700	2.055
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	1.257 ab	1.545 ab	1.808	2.139
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	1.231 ab	1.581 ab	1.739	2.226
Mean	1.254	1.552	1.761	2.180
CV, %	4.35	8.83	6.41	15.36
Probability	0.0058	0.0346	0.2436	0.7189

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 6 - Effect of treatments on accumulated feed conversion ratios corrected for the weight of dead birds.

Treatments	1 to 7d	1 to 21d	1 to 35d	1 to 42d
T1 – Regular diet	1.185 b	1.392 b	1.583 c	1.709 bc
T2 – Malabsorption diet	1.285 a	1.511 ab	1.685 ab	1.816 ab
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	1.259 ab	1.511 ab	1.673 abc	1.774 abc
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	1.267 a	1.599 a	1.704 a	1.846 a
T5 – Malabsorption diet + probiotic	1.285 a	1.527 ab	1.641 abc	1.770 abc
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	1.260 ab	1.452 ab	1.596 bc	1.704 c
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	1.257 ab	1.498 ab	1.673 abc	1.780 abc
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	1.231 ab	1.518 ab	1.648 abc	1.782 abc
Mean	1.254	1.501	1.651	1.773
CV, %	4.35	7.48	4.05	4.15
Probability	0.0058	0.0222	0.0023	0.0016

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 7 - Effect of treatments on mortality from 1 to 42 days old, %.

Treatments	1 to 7d	1 to 21d	1 to 35d	1 to 42d
T1 – Regular diet	0.39	1.58	1.58	1.98
T2 – Malabsorption diet	0.79	1.58	1.58	2.23
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine	0.39	0.79	1.19	1.58
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium perfringens</i>	1.58	1.98	2.38	2.77
T5 – Malabsorption diet + probiotic	0.79	1.58	1.58	2.77
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	1.19	1.58	1.58	1.58
T7 – Malabsorption diet + cocci vac. + probiotic	0.39	0.39	0.79	0.79
T8 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium perfringens</i>	0.39	0.39	0.39	0.79
Mean	0.74	1.24	1.38	1.81
CV, %	14.78	16.33	16.48	16.41
Probability	0.8523	0.6737	0.7173	0.4273

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

Table 8 - Carcass, abdominal fat and yields of the commercial cuts at 43 days of age, %.

Treatments	Carcass ¹	Abdominal fat	Breast fillets ²	Tender	Thighs	Drumsticks	Wings	Cage
T1 – Regular diet	77.2	1.69	4.0	29.58 ab	13.1	18.6	10.10	22.0
T2 – Malabsorption diet	74.9	1.62	4.0	29.25 ab	13.2	18.4	10.00	22.2
T3 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccinated	76.9	1.70	4.1	29.42 ab	13.3	18.2	10.11	22.1
T4 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + <i>Clostridium</i>	76.1	1.89	4.1	29.13 ab	13.4	18.5	9.86	22.3
T5 – Malabsorption diet + probiotic	76.9	2.01	4.1	29.16 ab	13.0	18.4	9.99	22.0
T6 – Malabsorption diet + probiotic + <i>Clostridium</i>	77.1	1.67	4.1	29.84 a	13.0	17.9	10.05	22.1
T7 – Malabsorption diet + coccidiosis vaccine + probiotic	77.4	1.79	4.1	29.74 ab	13.1	18.3	9.89	22.0
T8 – Mal. diet + coccidiosis vaccine 10 X + probiotic + <i>Clostridium</i>	76.4	1.90	4.0	28.39 b	13.3	18.2	10.11	22.4
Mean	76.6	1.78	4.1	29.31	13.2	18.3	10.01	22.1
CV, %	1.68	2.67	1.34	1.39	0.92	1.93	1.34	1.14
Probability	0.1423	0.4183	0.8565	0.0398	0.2354	0.5006	0.7892	0.7258

Means followed by different letters are different using Tukey ($P \leq 0.05$).

¹Eviscerated carcass as a percentage of body weight, whereas cuts are proportions of the carcass. ²Breast fillets without skin.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de pesquisas com probióticos, até o momento, são contraditórios quanto à sua eficiência. De acordo com Faria et al. (2009), as diferentes respostas para o uso de probióticos para frangos de corte podem ser devido a fatores como diferentes concentrações e microrganismos utilizados, estado de saúde animal, dietas e instalações, temperatura, lotação, densidade, intensidade do desafio, sexo, níveis nutricionais empregados, entre outros.

Outro ponto a ser enfatizado é que as vantagens esperadas do uso de probióticos no campo são maiores do que aqueles encontrados em condições experimentais, uma vez que, para todos os efeitos práticos, o sistema atual de criação de aves utilizado por nossas agroindústrias tem reutilizado a cama por vários lotes. Assim, é importante realizar pesquisas sobre condições que representem a real pressão de infecção das instalações avícolas, possibilitando assim a demonstrar com maior clareza a eficácia dos probióticos para produtividade das aves.

Este trabalho mostrou que o uso do probiótico reduziu os efeitos negativos do desafio nutricional e sanitário, uma vez que a sua inclusão na dieta dos tratamentos que possuíam estes desafios possibilitou resultados de desempenho similares ao tratamento com dieta regular aos 42 dias de idade das aves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E.N. Probióticos e Correlatos na Produção Avícola. In: FARMACOLOGIA aplicada à avicultura, São Paulo: Rocca, 2005. cap. 15, p. 224-237.
- APAJALAHTI, J., KETTUNES, A., GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Wallingford, v.60, p.223-232, 2004.
- BARBOSA, F.H.F. et al. Perfil de Susceptibilidade Antimicrobiana de Bifidobacterium bifidum Bb12 e Bifidobacterium longum Bb46. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 1, n. 2, 2001.
- COPPOLA, M.M.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.
- CORRÊA, G.S.S. et al. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, p. 467-473, 2003.
- EDENS, F.W. et al. Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of Lactobacillus reuteri. **Poultry Science**, Champaign, v.76, p.179-196, 1997.
- EYNG, C. et al. Avaliação de probióticos para pintos de corte de 1 a 21 dias de idade em ração fareladas e peletizadas. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, suplemento 8, p. 51. 2006.
- FARIA, D.E. et al. Alternativas ao uso de antibióticos promotores de crescimento para frangos de corte: 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 10, n. 1, p. 29-39, 2009.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied Bacteriology**, London, v.66, p.55 -61, 1989.
- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú. **Anais...** Balneário Camboriú, 2004. p. 6-28
- GASKINS, H.R. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: SWINE nutrition, 2. Ed. Florida: CRC Press, 2001. p. 585-608
- GONZALES, E.; CESARIO, M.D. Desenvolvimento embrionário. MANEJO da Incubação. Campinas: Facta. 2003. p. 52-64
- JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N. Effects of adherent Lactobacillus cultures

on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. **Animal and Feed Science Technology**, Amsterdam, v.70, p.197-209, 1998.

LEANDRO, N.S.M. et al. Probiótico na ração ou inoculado em ovos embrionados. 1. Desempenho de pintos de corte desafiados com Salmonella Enteritidis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.7, p.1509-1516, 2010.

LIMA, A.C.F. et al. Efeito do Uso de Probiótico sobre o Desempenho e Atividade de Enzimas Digestivas de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 1, p.200-207, 2003.

LODDI, M.M. et al. Uso de Probiótico e Antibiótico sobre o Desempenho, o Rendimento e a Qualidade de Carcaça de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

LODDI, M.M. et al. Inoculação de probióticos em ovos embrionados: morfometria do intestino delgado após o nascimento. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, suplemento 8, p. 177, 2006.

LORA, A.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. Avaliação do probiótico (*Bacillus subtilis*) sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, suplemento 8, p. 119. 2006.

LORENÇON, L. et al. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum Animal Science**. Maringá, v. 29, n. 2, p. 151-158, 2007.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Santos: Facta, 2005. v. 1, p. 53-72.

MACKIE, R.J.; SGHIR, A. GASKINS, H.R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. **American Journal Clinical Nutrition**, Baltimore, v. 69, n. 5, p. 1035-1045, 1999.

MAIORKA, A. et al. Utilização de Prebióticos, Probióticos ou Simbióticos em Dietas para Frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, n. 1, 2001.

MARTINS, B.B. et al. Influência das diferentes vias de aplicação de probiótico sobre o desempenho de frangos de corte. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 6., Estância de São Pedro. **Trabalhos Científicos Aves**. Estância de São Pedro, 2014.

MARTINS, F.S.; PEREIRA, F.C.; BARBOSA, F.H.F. Utilização de leveduras como probióticos. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, [S.l.], v. 5, n. 2, 2005.

MARTINS, F.S.; BARBOSA, F.H.F.; PENNA, F.J. Estudo do potencial probiótico de linhagens de *saccharomyces cerevisiae* através de testes in vitro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, [S.l.], v. 5, n.2, 2005.

MEURER, R.F.P. et al. Evaluation of the use of probiotics in diets with or without growth promoters for broiler chicks. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, p. 2687-2690, 2010.

NISHIO, C.M.; LEAL, D.D.M.; PEDROSO, A.C. Avaliação da estabilidade de um probiótico na ração de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, suplemento 8, p. 47, 2006.

NUNES, R.V. et al. Use of probiotics to replace antibiotics for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n.10, p. 2219-2224, 2012.

NURMI, E; RANTALA, M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. **Nature**, [London], v. 241, p. 210-211, 1973.

PEDROSO, A.A., MENTEN, J.F.M.; LAMBAIS, M.R. The structure of bacteria community in the intestines of newly hatched chicks. **Journal Applied Poultry Research**, Oxford, p. 14, 2005.

PEDROSO, A.A., MAURER, J., CHENG, Y., LEE, M.D. Remodeling the intestinal ecosystem toward better performance and intestinal health. **Journal Applied Poultry Research**, Oxford, v.21, p.432–443, 2012.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, R.A.; SOUZA, H.B.A. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.6, n.4, p.231-236, 2004.

ROCHA, A.P. et al. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 3, p. 793-801, 2010.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2011.

SANTOS, M.S. et al. Influência do fornecimento de probiótico à base de *lactobacillus* sp. sobre a microbiota intestinal de leitões. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p.1395-1400, nov./dez., 2003.

SILVA, W.T.M. et al. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v.33, n.1, p.19-24, 2011.

SLUIS, W.V.D. Clostridial enteritis is an often underestimated problem. **World Poultry**, Netherlands, v.16, n.7, p.42-43, 2000.

TEJEDOR, A.A. et al. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 802-808, 2001.

TRALDI, A.B. et al. Avaliação de probióticos na dieta de frangos de corte criados em cama nova ou reutilizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 660-665, 2007.

VAN DER WIELEN, P. et al. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. **Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 44, p. 286–293, 2002.

ZUANON, J.A.S. et al. Desempenho de Frangos de Corte Alimentados com Rações Contendo Antibiótico e Probiótico Adicionados Isoladamente, Associados e em Uso Sequencial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 994-998, 1998.

APÊNDICE

Apêndice 1: Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Brazilian Journal of Poultry Science.

Brazilian Journal of Poultry Science / Revista Brasileira de Ciência Avícola

Instructions to the Authors

Brazilian Journal of Poultry Science is published with the coordination of the Publishing Committee of the APINCO Foundation of Poultry Science and Technology; and the concepts are of the authors' full responsibility. Brazilian Journal of Poultry Science published three times each year will consider original material for publication relevant to entire field of poultry science and all other birds. Subject areas include Immunology, Biochemistry and Cellular Biology, Housing and Environment, Wasting Control, Avian Diseases, Nutrition, Improvement, Physiology and Breeding, Management, Egg Production, Meat Technology, Wild and Exotic Birds, Quail Production.

TYPE OF PAPERS

The Journal publishes original research papers in full and short communication formats, case reports, technical reviews, reviews, guest editorial and technical reviews. Short communications are for reports that are complete, but can be adequately presented within the length restrictions below. Case report should describe in detail a new or unusual naturally occurring disease. Authors wishing to offer a review, guest editorial or technical review should contact the Editor. The Journal has the objective of publishing complete scientific and technical articles and reviews in the area of Poultry Science, elaborated by specialists, as long as they follow the journal policy. The publication of articles will depend on the observance of the Editorial Norms and the evaluation of the Publishing Committee and the Editorial Board and/or ad hoc referees. All evaluations are of confidential and impartial character; both authors and members of the Editorial Board and/or ad hoc referees shall not obtain cross information among themselves. Manuscripts should be submitted in English language only. Submission of a manuscript to BRAZILIAN JOURNAL OF POULTRY SCIENCE implies that (1) it has not previously been published, (2) that it is not being submitted for publication elsewhere, (3) that all authors have approved the manuscript, (4) that all authors have obtained permission from their employer or institution to publish, if they have a contractual or moral obligation to do so and (5) that relevant permissions, including ethical approval, has been obtained for working involving the use of animals and genetic manipulation. Papers describing experiments which demonstrate a lack of concern for current ethical and welfare standards will not be accepted for publication. The final decision in this respect belong to the Editor. The manuscripts and other correspondence should be send to: Brazilian Journal of Poultry Science FACTA - Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas Avenida Andrade Neves, 2501 13.070-001 – Campinas, SP, Brasil Tel. 55 (19) 3243-6555 Fax. 55 (19) 3243-8542 E-mail: rvfacta@terra.com.br.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

Full length papers

Should present the results of a research which contributes in a relevant way to the

development of poultry science. If part of the results were published previously as a summary in congress, seminar or symposium it must be stated. Priority will be given to articles, which present new concepts, methodologies or innovative experimental approaches. There is no limit to the number of pages of the manuscript, however, the authors should maintain a minimum number, including figures and tables. They should contain the following sections, each written concisely: Title, Abstract, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and References. Acknowledgements should be included after Discussion. The sections Results and Discussion can be placed together if appropriated. The abstract should contain up to 250 (two hundred and fifty) words, followed by the key words in alphabetic order, limited to 5 (five), which correspond to words or expressions that identify the contents of the article. Short communication and Case report. Should have the same layout as full length papers, including the headings Introduction, Abstract, Material and Methods, Result, Discussion, Acknowledgments and References. They should comprise up to 1000 words (plus abstract, references and legends) and should contain no more than three/illustrations.

Technical Article

Technical articles should present the development of new methodologies and/or techniques that can be applied to improve the poultry production. These should follow the editorial norms including all sections of the scientific article.

Guest editorial, Technical review and Reviews

Will be published by specialists invited by the Publishing Committee. These articles can also be submitted by independent author(s), and in this case the draft of a review article will be submitted to the Publishing Committee, and if considered adequate, the author(s) will be invited to prepare the review for publication. The review should follow the norms of the scientific article, however, without subdivisions in Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, preserving the abstracts with key words, similar to those on the scientific article, besides References.

PRESENTATION OF THE ARTICLES

1. Typing: original in 3½" high density diskette, properly identified by the title of the article and the name(s) of the author(s) and three printed copies, with tables/ figures and references. It should be obligatorily typed in the A4 format (21,0 x 29,7cm), double space, on one side of the paper, left side margin of 3,0 cm, Times New Roman font size 16 for the title, 14 for the items in the body of the text and size 12 for the text, consecutive numbering of pages and numbering of the lines of the text. Illustrations and legends should be listed on separate sheets. The manuscript should be presented using one of the following text editors: Microsoft Word for Windows or Microsoft Word version 6.0 or superior. Use only official nomenclature and well known abbreviations, not using abbreviations in the title.

2. Cover Page: all articles should have a cover page with the title of the article, complete name(s) of the author(s) and Institute of origin. The footnote of the page should mention the complete address (e-mail is essential) of the author to whom correspondence should be forwarded.

3. Tables: these should be numbered in Arabic numerals and headed by the title. The elaboration of tables should follow the Tabular Presentation Norms established by the National Council of Statistics (Rev. Bras. Est., v.24, p.42-60, 1963), when possible. Tables sent in other program than Word, must be send in the original computer program together with a

printed copy.

4. Illustrations (photographs, graphs, drawings): Should be numbered consecutively with Arabic numerals and stated as figures. All figures should be identified on separate sheets with the title of the article, name(s) of the author(s) and indication of the part of the text where they should appear. The legends should also be presented on separate sheets. In the case of photomicrographs in black and white these should carry the enlargement bar with the amplitude determined in the legend of the Figure(s). Photographs, figures and scanned material must be sent separately in high resolution computer software (minimum 600 dpi, tif format or jpg for PC). If it is necessary to compact the file, use the WINZIP software. The figures will be published in black and white; if the author wishes to have colored photos and or figures, the author will pay for such expense (consult the executive editor previously).

5. Units: The International Metric System should be used for units and abbreviations. Examples: s for seconds, min for minutes, L for liter, cal for calories, J for joules, kDa for kiloDaltons, 5 mM, instead of 5×10^{-3} or 0,005 M.

6. References: these should be arranged in alphabetic order by the author's surname. The complete title, never abbreviated, of the periodical should be mentioned. All authors of the article must be cited. In this section it is not allowed to use italic words, irrespective of their Latin origin. Examples:

Bakst MR, Gupta K, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. *Poultry Science* 1997; 76(1):83-90.

Bouzoubaa K, Nagaraja KV. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Marocco. In: Snoeyenbos GH, editor. *Proceedings of the International Symposium on Salmonella*; 1984; Kenneth Square, PA: American Association Avian Pathologists; 1985. p.337.

Briceno WNO, Guimarães FCR, Cruz FGG. Efeitos da densidade populacional de frangos de corte em época quente no município de Manaus. In: 10o Congresso Brasileiro de Avicultura; 1987; Natal, Rio Grande do Norte. Brasil. p. 131-2.

Gabriel JE. Efeitos do nível energético da ração e do estresse térmico na expressão da proteína de choque térmico Hsp70 e nos níveis do seu mRNA no fígado de frangos de corte em diferentes estágios de desenvolvimento. [Dissertação]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ginsburg M. Primordial germ cell development in avians. *Poultry Science* 1997; 76(1):91-5.
Simon VA, Oliveira C. Vacinação em avicultura através da água de bebida. In: Macari M, editor. *Água na avicultura industrial*. Jaboticabal: Funep-Unesp; 1996. p. 73-85.

Summers JD, Leeson S. *Commercial poultry nutrition*. 2 ed. New York (NY): State Manual Book & Periodical Services; 1997.

7. Quotations in the text: state the surname of the author followed by the year in parenthesis, corresponding to what appears in the References. When it is the case of two authors, both should be stated. In the case of more than two authors, the quotation should be followed by the surname of the first author followed by the expression et al. (in italic), according to the following examples: Examples:

Simon (1996)

Silva & Silva (1988)

Briceno et al. (1987)

8. Scientific names of microorganisms: must follow Berg recommendatoin.

9. Fees: The author(s) will be charged US\$ 15,00 (fifteen dollars)/ R\$25,00 (twenty five reals) per edited page with the payment being done on the devolution of article proof; however, if the first author subscribe the Journal the price will be US\$ 10,00 (ten dollars)/ R\$15,00 (fiften reals) per page. Alterations in the text can be done, however, the author(s) will be charged. A reduction of fee/page can be required if among authors there are collaborators who do not work specifically in the area. Reprints of the published papers should be provided to the author(s) if required, and the price will be presented according the number of reprints (contact the Editor must be done on request).

10. Proofs: Usual practice will be to send proofs to the corresponding author, who should be identified on the title page of the manuscript. Proofs should be return within three days, preferable by fax (or email) in the first instance and then by post (air mail where appropriate). It is a condition of acceptance that the Editor reserves the right to proceed to press without submitting the proofs to the author. While reasonable steps will be taken to ensure that proof reading is accurate, neither the Editor nor the Publisher shall be responsible for any errors.

11. Offsprings: There is no free offsprings. They can be provided after Editor consultation.

12. Copyright: It is a condition of publication that the authors vest copyright in their articles, including abstracts, in the FACTA - Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. This enable us to ensure full copyright protection and to disseminate the articles and the journal to the widest possible readership in print and electronic formats as appropriate. Authors, of course, may use the articles elsewhere after the publication without prior permission from FACTA, provided that acknowledgement is given to the journal as the original source of publication. Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

VITA

André Luiz Ghiotti, filho de Luis Carlos Ghiotti e Teresinha de Fátima Rosa Ghiotti, nascido em 8 de agosto de 1980, em Caxias do Sul-RS. Estudou no Colégio Marista São Francisco em Vacaria-RS, onde completou o Ensino Fundamental em 1994 e no Colégio Irmão José Otão em Caxias do Sul-RS, onde concluiu o Ensino Médio em 1997. No ano 2000 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), onde, em 2002 iniciou as atividades como bolsista de iniciação científica sob orientação do Prof. Dr. Antonio Mario Penz Jr., até a conclusão da graduação em dezembro de 2005. Realizou estágio curricular na empresa Globoaves Agroavícola Ltda entre agosto novembro de 2005. Em janeiro de 2006, foi contratado pela empresa Perdigão Agroindustrial S/A, atuando com produção e sanidade animal na área de avicultura. Em julho de 2006 foi contratado pela empresa Doux Frangosul Agroavícola Ltda para atuar na área de avicultura com matrizes reprodutoras de frangos de corte, onde permaneceu até novembro de 2011. A partir de janeiro de 2012 passou a prestar serviço para empresas da área de nutrição de aves. Em março de 2013 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) sob orientação do Prof. Dr. Sérgio Vieira. Foi submetido à banca de defesa de Dissertação em março de 2015.