

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais

Aldo Pereira Salvador

**USO DE PROBIÓTICO EM SUBSTITUIÇÃO AO ANTIBIÓTICO EM DIETAS DE  
POEDEIRAS COMERCIAIS**

RIO POMBA

2020

Aldo Pereira Salvador

**USO DE PROBIÓTICO EM SUBSTITUIÇÃO AO ANTIBIÓTICO EM DIETAS DE  
POEDEIRAS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, *Campus* Rio Pomba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Produção Animal.

Orientador (a): Dra. Cristina Henriques Nogueira

Coorientador (a): Dr. Adriano Geraldo

RIO POMBA

2020

**Ficha Catalográfica elaborada pela Diretoria de Pesquisa e Pós  
Graduação – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do  
Sudeste de Minas Gerais / *Campus* Rio Pomba  
Bibliotecária: Ana Carolina Souza Dutra CRB 6 / 2977**

S182

Salvador, Aldo Pereira.

Uso de probiótico em substituição ao antibiótico em dietas de  
poedeiras comerciais. / Aldo Pereira Salvador – Rio Pomba, 2020.

45 f.

Orientador: Prof. Cristina Henriques Nogueira.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Pós-Graduação *Stricto Sensu*  
em Nutrição e Produção Animal - Instituto Federal de Educação, Ciência  
e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba.

1. Avicultura. 2. *Bacillus subtilis*. I. Nogueira, Cristina Henriques.  
II. Título.

CDD: 363.5

ALDO PEREIRA SALVADOR

**USO DE PROBIÓTICO EM SUBSTITUIÇÃO AO ANTIBIÓTICO EM DIETAS DE  
POEDEIRAS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, *Campus* Rio Pomba, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Produção Animal.

Aprovado em: 14/05/2020

**BANCA EXAMINADORA**

Prof.<sup>a</sup>. Cristina Henriques Nogueira  
Doutora em Estatística e Experimentação  
Agropecuária  
IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba

Prof. Adriano Geraldo  
Doutor em Zootecnia  
IFMG – Campus Bambuí

Prof. Francisco Carlos de Oliveira Silva  
Doutor em Zootecnia  
IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba

Prof. Luiz Carlos Machado  
Doutor em Zootecnia  
IFMG – Campus Bambuí

Dedico este trabalho a Deus e a todos pelo apoio e dedicação.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais Campus Rio Pomba, por acreditar neste estudo.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais (IFMG) – Campus Bambuí, por ceder os recursos físicos para o experimento.

Ao laboratório de Morfologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio em análises laboratoriais.

À Professora Dra. Cristina Henriques Nogueira pela orientação, apoio na condução da dissertação.

Ao professor Dr. Adriano Geraldo pela coorientação e apoio na condução do experimento e desta dissertação.

À Professora Dra. Michele de Oliveira Mendonça, pela contribuição técnica, aos ensinamentos nas disciplinas e pelo enorme apoio na elaboração e procedimentos do experimento.

Ao Zootecnista José Nivaldo, ao professor Dr. Luiz Carlos Machado e aos estudantes Diogo Alvarenga Miranda, Larissa Faria Silveira Moreira e Maria Luísa Paiva Dornelas pelo apoio e grande contribuição na execução do estudo.

E a todos que, direta e indiretamente contribuíram nesta formação, o meu profundo agradecimento.

“Cuidado com o que desejas...  
Seus sonhos podem se tornar realidade”.  
(Daniel Grandinetti)

## RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da alimentação de galinhas poedeiras semipesadas com rações contendo níveis crescentes de probióticos *Bacillus subtilis*, sobre parâmetros de desempenho zootécnico (consumo de ração, produção de ovos/ave/dia, produção de ovos comercializáveis, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e viabilidade das aves), qualidade de ovos (peso do ovo, gravidade específica, unidade *Haugh*, índice de gema, porcentagem dos componentes do ovo, espessura da casca e cor de gema), vilosidades intestinais e presença de *Salmonella enteritidis*. O experimento teve duração de 112 dias, divididos em quatro períodos de 28 dias cada. Foram utilizadas 210 galinhas semipesadas da linhagem Hisex Brown®, com 30 semanas de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado composto por seis tratamentos com sete repetições de cinco aves por unidade experimental. Os tratamentos comparados foram ração controle negativo sem suplementação com probiótico ou antibiótico, ração controle positivo (uso do antibiótico Halquinol) e rações com suplementação de 100, 150, 200 e 250 g por tonelada de ração de aditivo probiótico *Bacillus subtilis*. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo que, para os parâmetros significativos ao nível de 5% de probabilidade, procedeu-se a regressão polinomial. Os parâmetros de desempenho zootécnico como, consumo de ração, produção de ovos-ave/dia, produção de ovos comercializáveis, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e viabilidade das aves e de qualidade de ovos como, peso do ovo, unidade *Haugh*, índice de gema, porcentagem dos componentes do ovo (gema, albúmen e casca), espessura da casca e cor de gema e parâmetros histomorfológicos do jejuno, não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com exceção ao parâmetro de gravidade específica que, de acordo com o modelo de regressão ajustado, apresenta o menor valor com a adição de 130 gramas de *Bacillus subtilis* por tonelada de ração.

**Palavras-chave:** Avicultura. *Bacillus subtilis*. Postura comercial.

## ABSTRACT

### Use of probiotic in antibiotic replacement in diets of commercial laying hens

The objective of this study was to evaluate the effect of feeding on diets containing increasing levels of *Bacillus subtilis* probiotics, in semi-heavy laying hens, within the parameters of zootechnical performance (feed intake, , marketable egg production, daily egg production per hen, egg mass, feed conversion per dozen and by egg mass and viability of birds), egg quality (egg weight, specific gravity, Haugh unit, yolk index, percentage of egg components, shell thickness and yolk color), intestinal villi and presence of *Salmonella enteritidis*. The experiment lasted 112 days, divided into four periods of 28 days each. We used 210 semi-heavy Hisex brown chickens®, at 30 weeks of age, distributed in a completely randomized design composed of six treatments with seven replicates of five birds per experimental unit. The compared treatments were negative control diet without probiotic or antibiotic supplementation, positive control ration (use of the antibiotic Halquinol) and diets with supplementation of 100, 150, 200 and 250 g per ton of probiotic additive ration *Bacillus subtilis*. The results were submitted to variance analysis, and for the significant parameters at the level of 5% probability, polynomial regression was performed. The parameters of zootechnical performance such as feed intake, bird egg production/day, production of marketable eggs, egg mass, feed conversion per dozen and by egg mass and viability of birds and egg quality such as egg weight, Haugh unit, yolk index, percentage of egg components (yolk, albumen and shell), shell thickness and yolk color and histomorphological parameters of jejunum, did not present significant differences ( $p < 0.05$ ) except for the specific gravity parameter which, according to the adjusted regression model, presents the lowest value with the addition of 130 grams of *Bacillus subtilis* per ton of ration.

**Keywords:** Poultry Farming. *Bacillus subtilis*. Commercial posture.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 – Ajuste do modelo linear de regressão quadrática para a gravidade específica de ovos em função do nível de inclusão de probiótico a base de <i>Bacillus subtilis</i> . .....	40
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição nutricional da ração basal .....	30
Tabela 2 – Produção de ovos (PO), Ovos comercializáveis (OC), Massa de ovos (MO), Consumo de ração (CR), Conversão alimentar por dúzia de ovos (CA/DZ) e Conversão alimentar por kg de ovos (CA/kg), Viabilidade (VB) .....	36
Tabela 3 – Peso dos ovos (PO), gravidade específica (GE), índice de gema (IG), porcentagem de gema (PG), porcentagem de albúmen (PA), porcentagem de casca (PC), espessura de casca (EC), unidades Haugh (UH) e cor da gema (CG) segundo a inclusão de probiótico .....	38
Tabela 4 – Altura de vilos (AV) e profundidade (PC) de cripta de jejuno de intestino de galinhas poedeiras .....	42

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
IF Sudeste MG	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais
IFMG	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
2.1	Avicultura no Brasil.....	15
2.2	Antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) .....	15
2.3	Probiótico .....	17
2.4	Morfologia e microbiota intestinal das aves.....	18
2.5	Modo de ação de antimicrobianos e probióticos nas aves .....	19
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>22</b>
	<b>CAPITULO I – ARTIGO .....</b>	<b>25</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
2.1	Local, aves, dietas e manejo.....	28
2.2	Dietas utilizadas e manejo dos animais .....	28
2.3	Parâmetros avaliados.....	31
2.4	Análise estatística .....	34
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
3.1	Parâmetros de desempenho das aves.....	35
3.2	Parâmetros de qualidade de ovos.....	37
3.3	Análise histomorfométrica .....	41
3.4	Análise microbiológica.....	43
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O ovo é uma das principais fontes de proteína animal consumidas no Brasil e está presente em grande parte dos domicílios, por ser uma fonte de proteína animal de custo acessível e, principalmente, por ser um alimento saudável e nutritivo.

O consumo de ovos per capita pelos brasileiros foi de 230 unidades no ano de 2019 e 212 unidades no ano de 2018, mostrando um aumento de 8,49% segundo o relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal de 2020 (ABPA). Conforme este mesmo relatório, a produção foi de 49.055.709.215 unidades no ano de 2019 e 44.487.496.586 no ano de 2018.

Estes crescimentos geram constantes buscas dos produtores de ovos por maiores resultados produtivos, os quais estão ligados à capacidade das aves em aproveitar ao máximo o valor nutricional dos alimentos.

Uma das alternativas amplamente utilizadas para viabilizar a produção e proporcionar melhoria dos índices zootécnicos na avicultura de postura e de corte é o uso de antibióticos como promotores de eficiência alimentar. Entretanto, alguns produtores utilizam esta ferramenta de maneira indiscriminada na busca de altos desempenhos zootécnicos. Devido a isso, em 2008 a União Europeia restringiu o uso de aditivos antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal.

Seguindo a mesma tendência, o Brasil vem limitando o uso desses aditivos, sendo os casos mais recentes o do sulfato de colistina, cujo armazenamento e uso em todo território nacional para alimentação animal foi proibido por meio da Instrução Normativa Nº 45, de 22 de novembro de 2016 (BRASIL, 2016) e da Tilosina, Lincomicina e Tiamulina, proibidos pela Instrução Normativa nº 01, de 13 janeiro de 2020.

Atualmente, a disponibilidade de informações acessíveis à população tem possibilitado que discussões sobre alimentação saudável, forma de produção de alimentos e tecnologias envolvidas na produção de proteína animal sejam cada vez mais frequentes, evidenciando a preocupação das pessoas quanto a sua alimentação. Neste sentido, a presença de resíduos de aditivos melhoradores de desempenho em carnes, leite e ovos pode ser considerada um fator relevante para a

opinião pública acerca do alimento e, conseqüentemente, repercutir na sua intenção de consumo.

Neste contexto, com as restrições impostas pelo de usos de antimicrobianos tanto no mercado nacional quanto no mercado internacional, encontrar substitutos para os antimicrobianos promotores de crescimento tornou-se de fundamental importância para a manutenção da produtividade no setor avícola.

Entre os substitutos dos aditivos promotores de eficiência alimentar, encontram-se diversos produtos que estão em estudo, como os ácidos orgânicos, óleos essenciais, extratos vegetais, probióticos, prebióticos e simbióticos.

Dentre estes, os probióticos possuem um forte enfoque na alimentação animal, uma vez que têm a capacidade de produzir benefícios no hospedeiro, melhorando, de forma ativa, a absorção de nutrientes. Além disso, os probióticos são microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, melhoram a flora microbiana intestinal por competição aos microrganismos patogênicos, além de estimularem a imunidade do hospedeiro.

Na nutrição animal, diversas pesquisas demonstram que probióticos administrados para galinhas poedeiras, durante o ciclo de produção, podem melhorar as características de desempenho e qualidade de ovos. Este fato sugere que os probióticos podem ser uma alternativa viável na substituição de aditivos antimicrobianos (antibióticos) na alimentação desses animais.

Um dos probióticos que vem sendo estudado com frequência trata-se das cepas de *Bacillus subtilis*, devido às suas grandes vantagens que vão desde o mecanismo de ação no hospedeiro referente à sua capacidade de esporular, garantindo a sobrevivência ao trânsito pelo estômago, até a capacidade de se manter viável na produção e armazenamento de rações.

No entanto, os resultados de pesquisas sobre a utilização de probióticos principalmente aos *Bacillus subtilis* em galinhas poedeiras ainda são alvo de contradições e, com isso, faz-se necessário a condução de mais estudos acerca deste tema. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, parâmetros histológicos intestinais e presença bacteriológica dos ovos e de galinhas poedeiras semipesadas alimentadas com rações adicionadas de probiótico.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Avicultura no Brasil**

A avicultura industrial no Brasil pode apresentar um ponto inicial no final da década de 1950, período que inicia-se a substituição da antiga avicultura comercial e foi nessa época também que começaram a ser estruturados os novos galinheiros, incluindo novos métodos de manejo, paralelamente nesse período o Instituto Biológico de São Paulo, entre outras instituições começaram a se tornar mais unidos no sentido da melhoria no do controle sanitário em geral (SORJ et al., 2008).

Os sistemas de criação e manejo de galinhas poedeiras podem ser classificados em intensivos, podendo ser em gaiolas ou sobre o piso, em galpões abertos ou fechados e sistemas extensivos ou alternativos como os *free range*, orgânico, colonial ou tipo caipira (AMARAL et al., 2008).

Nas maioria das granjas comerciais, as aves são criadas em sistemas intensivos com baterias de gaiolas em escala industrial, sistema este que foi desenvolvido para uma alta produção, resultado da evolução tecnológica de produção e que vem alinhado com o desenvolvimento do melhoramento genético, da nutrição, manejo, sanidade e ambiência (SILVA FILHO, et al., 2015).

Atualmente o Brasil vem apresentando uma alta crescente na produção e no consumo de ovos, cujas causas estão relacionadas com o aumento das tecnologias de produção, a elaboração de novos produtos como processos de ovos pasteurizados e a quebra de mitos quanto ao ovo ser um vilão em relação ao colesterol .

Segundo o relatório da ABPA (2020), no ano de 2018 mais de 50% da produção nacional é concentrada em três estados, onde São Paulo foi quem mais alojou pintainhas com 32,97%, seguindo por Minas Gerais que alojou 9,99% e o Espírito Santo com 10,83%. Ainda segundo este relatório a produção Brasileira de ovos tem sua grande parcela para o consumo interno ( 99,59%) e apenas 0,41% para o mercado internacional.

### **2.2 Antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos)**

A descoberta dos antimicrobianos, fármacos milagrosos do século XX, foi um grande avanço para a aplicação terapêutica tanto na medicina humana quanto na veterinária e agricultura (SILVA, 2019).

Alexander Fleming descobriu o antibiótico penicilina de forma acidental quando, em um estudo, semeou uma placa com *Staphylococcus aureus*, deixando-a sobre a bancada durante suas férias e, ao retornar, verificou que havia uma contaminação nas placas por um fungo e nas proximidades as bactérias semeadas estavam aparentemente sofrendo lise. Em 1941, com a Segunda Guerra Mundial, os cientistas Chain e Florey testaram pela primeira vez a penicilina em humanos, após comprovação da eficácia em animais (BEZERRA et al., 2017). Ainda segundo estes autores, o primeiro estudo científico na avicultura foi publicado em 1949, atribuindo o uso de clortetraciclina em níveis subterapêuticas para aves.

O sucesso na produtividade da avicultura depende, dentre outros fatores, da saúde intestinal das aves para que se obtenha a máxima eficiência na absorção dos nutrientes e, assim, melhorando o desempenho produtivo. Devido às criações intensivas e a susceptibilidade das aves de adquirirem doenças, torna-se evidente a necessidade de se utilizar aditivos que beneficiem a flora intestinal e, neste caso, os aditivos antimicrobianos que modulam a microbiota das aves (DALÓLIO et al.; 2015).

Os antibióticos, usados como promotores de crescimento, têm sido muito utilizados na avicultura e em grande parte de maneira indiscriminada na busca de maior desempenho zootécnico (SOUZA et al., 2014).

Conforme descreve Cardoso (2017), o uso de antimicrobianos como promotores de eficiência alimentar é bastante controverso, uma vez que as doses administradas são subterapêuticas, o que pode promover a seleção de populações bacterianas resistentes aos antimicrobianos.

A resistência adquirida pelo microrganismo é uma propriedade que pode ser explicado como a mutação no DNA ou pela aquisição de um gene de resistência e, a partir do surgimento desse isolado resistente, cepas de bactérias inicialmente suscetíveis a determinado antimicrobiano podem tornar-se resistentes, geralmente, após seleção resultante do uso do princípio ativo (CARDOSO, 2017).

É fato que a relação custo-benefício favorece o uso de antibióticos como aditivos na alimentação das aves, contudo, devido às proibições de uso de aditivos antibióticos melhoradores de desempenho pela União Europeia, pesquisadores brasileiros vêm se esforçando no desenvolvimento de pesquisas para a utilização de substâncias que possam ser substitutos dos antibióticos e que possam melhorar o desempenho das aves e a qualidade do produto final (LEMOS et al.; 2016)

Recentemente, no Brasil, foi proibido o uso de alguns aditivos antimicrobianos que eram passíveis de serem utilizados na avicultura, como o sulfato de colistina, proibido pela Instrução Normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016, e a Tilosina, lincomicina e tiamulina, proibidos pela Instrução Normativa nº 01, de 13 janeiro de 2020.

Dentre os promotores de eficiência alimentar utilizados na avicultura liberados para utilização em aves de postura, encontra-se o clorohidroxiquinolina, conhecido como Halquinol. O Halquinol é uma substância cuja mistura se dá através de 5,7-dicloro-8-quinolinol, 5-cloro-8 quinolinol e 7-cloro-8-quinolinol, sendo um quimioterápico, de amplo espectro contra bactérias gram positivas e negativas, protozoários e fungos, em suínos e em aves (CARDOSO et al., 2002).

### **2.3 Probiótico**

De acordo com Rocha et al. (2010), os probióticos são microrganismos vivos que quando ingeridos em quantidades suficientes, melhoram a flora microbiana intestinal por exclusão dos microrganismos patogênicos, além de estimularem a imunidade do hospedeiro.

O termo probiótico foi utilizado primeiramente por Lilly e Stillwell, no ano de 1965, quando observaram nos microrganismos a ação de promotor de crescimento, definindo-os como 'pró-vida' ao contrário dos antibióticos 'contra-vida'. No ano de 1907, Elie Metchnikoff, do Instituto Pauster, na França, observou que os probióticos produziram, no hospedeiro, uma certa sinergia porque disputavam com bactérias patogênicas no intestino (MOTHCI, 2017). Outra definição aos probióticos foi formulada por Kuritza et al. (2014), os quais os descrevem como uma única ou uma

mistura de culturas de microrganismos vivos que, quando aplicadas a animais ou em seres humanos, afetam benéficamente o hospedeiro, melhorando as propriedades da microbiota endógena.

Os probióticos podem ser diferenciados em espécies colonizadoras, como o *Lactobacillus* e *Enterococcus* spp. ou não colonizadoras, de trânsito intestinal livre, como o *Bacillus* spp. e o *Saccharomyces cerevisiae*. Contudo, nas aves a ação dos probióticos é promovida por alguns mecanismos como a produção de ácidos orgânicos e substâncias tidas como antimicrobianas, promovendo estímulo ao sistema imune, a proteção dos vilos e das superfícies de absorção contra toxinas produzidas por microrganismos patógenos (COELHO, 2015).

Além do fato das proibições ao uso dos antimicrobianos já citados no item anterior, sua aplicação na indústria avícola vem sendo amplamente estudada nos últimos anos, tanto para o controle de doenças quanto por seu efeito na eficiência alimentar (GIL de los SANTOS et al., 2008)

## **2.4 Morfologia e microbiota intestinal das aves**

Nas galinhas de postura, o sistema digestório é composto de bico, faringe, esôfago, ingluvío, proventrículo, moela, órgãos anexos (fígado e pâncreas), intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), ceco, cólon e cloaca. Dentre estes, o intestino delgado é onde ocorre importante etapa da digestão e absorção de nutrientes. A digestão ocorre por meio de sais biliares e enzimas que são produzidos pelo fígado e pelo pâncreas.

O intestino é revestido internamente por uma mucosa intestinal cujas características são dobras microscópicas denominadas vilosidades ou vilos. Estas vilosidades proporcionam maior área de superfície da parte interna, permitindo maior digestão e absorção intestinal. Os epitélios dos vilos são compostos por três tipos celulares sendo, as caliciformes, os enterócitos e as células enteroendócrinas que participam da digestão, absorção e defesa (PIRES, 2016).

A mensuração do desenvolvimento da mucosa intestinal pode ser avaliada pela quantidade, altura dos vilos e profundidade de cripta. Este processo é

correspondente ao acréscimo no número de células epiteliais como enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas (STRINGHINI et al., 2013).

Ainda segundo Stringhini et al., (2013), os processos de aumento no tamanho e número de vilos ocorre pela renovação celular, através dos mecanismos de proliferação e diferenciação. Estes mecanismos são resultantes das divisões mitóticas que ocorrem nas células totipotentes presentes na cripta e ao longo dos vilos e pela extrusão (perda de células, apoptose) que é um processo normal que ocorre no ápice dos vilos. Ambos os mecanismos proporcionam a manutenção do tamanho dos vilos e a capacidade digestiva e de absorção intestinal.

O trato intestinal das aves é colonizado por inúmeras bactérias em gêneros e espécies. Essas bactérias persistem ao longo da vida do hospedeiro, passando a fazer parte da microbiota intestinal. Os principais gêneros bacterianos identificados na microbiota cecal de aves são: *Bacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Ruminococcus*, *Serratia*, *Veillonella* e *Streptococcus* (SILVA e FILHO, 2000).

Andreatti Filho et al. (2006) descreveram a microbiota das aves relacionando-a com seu local de atuação, onde os *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri* predominavam no ingluvío e intestino delgado, enquanto *L. acidophilus* foi encontrado no ingluvío, cloaca, duodeno, jejuno e cecos, todas estas apresentando funções benéficas contra bactérias patogênicas.

## **2.5 Modo de ação de antimicrobianos e probióticos nas aves**

Os antimicrobianos possuem como principais mecanismos de ação: a inibição da síntese de parede celular, a inibição da síntese de proteínas, a inibição da síntese de ácidos nucleicos, o dano à membrana plasmática e a inibição da síntese de metabólitos essenciais (BEZERRA et al., 2017).

Costa et al. (2007), relataram que os antibióticos agem sobre as bactérias e/ou fungos sensíveis ao princípio ativo, promovendo efeito bactericida com a morte do microrganismo ou efeito bacteriostático, interrompendo seu crescimento e sua

reprodução. Esses efeitos podem ocorrer na parede celular dos microrganismos, proporcionando alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferências na replicação cromossômica e na síntese proteica da célula.

Alguns antimicrobianos adicionados na alimentação das aves, apesar de possuírem objetivo semelhante, apresenta mecanismo de ação diferenciada. Este o caso do Avoparcina, que possui ação apenas em bactérias gram-positivas e sua ação antibacteriana parece estar relacionada com a inibição da biossíntese de um mucopeptídeo presente na parede celular das bactérias. A Colistina, já banida no Brasil desde 2016, é um antibiótico peptídico dificilmente absorvido pelo trato intestinal, que tem ação antibacteriana contra vários organismos gram negativos, incluindo *E. coli*, *Salmonella* sp e *Pseudomonas*, inibindo a síntese proteica e alterando a permeabilidade seletiva da membrana celular. Já a Clorhexidina age contra grande número de bactérias gram-negativas, gram-positivas, aeróbicas e anaeróbicas, levedos, fungos, esporos e vírus, modificando a estrutura e a função de sua parede celular (ZUANON et al., 1998).

Segundo Bruno et al. (2012), os probióticos, por sua vez, podem ser uma alternativa aos antibióticos, frequentemente utilizados na avicultura. Esses probióticos devem manter a ação promotora do crescimento dos animais e, ao mesmo tempo, deletar os efeitos indesejáveis que é a resistência bacteriana, tendo como modo de ação a exclusão competitiva em nível intestinal das aves, melhorando assim o seu desempenho.

A nível intestinal, Murarolli (2008) cita que para a eficiência dos probióticos, estes devem ser administrados nas primeiras fases de criação das aves, tendo como mecanismos de ação a competição com bactérias patogênicas por sítios de ligação no epitélio intestinal, competição por nutrientes, produção de compostos antibacterianos, supressão da produção da amônia no intestino e neutralização de enterotoxinas.

Os microrganismos probióticos benéficos existentes na microbiota das aves têm características e ações em locais próprios, de modo que as espécies do gênero *Lactobacillus* tais como *L. salivarius*, *L. fermentum* e *L. reuteri* encontram-se no intestino delgado; a *L. acidophilus* no duodeno, jejuno, ceco e na cloaca e as *L. reuteri* e *L. salivarius* no ceco.

A microbiota das aves, também contribui com a proliferação de outras bactérias benéficas como *Veillonella* spp., *Bacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteriodes* spp., as quais sintetizam ácidos graxos voláteis, diminuem a concentração de oxigênio, reduzem o pH e se aderem a mucosa intestinal e com isso, limitam a multiplicação de bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp, que são prejudiciais à saúde das aves (MOTHCI, 2017).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, G. F.; GUIMARÃES, D. D.; NASCIMENTO, J. C. O. F. DO; CUSTODIO, S. Avicultura de postura: estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n.43 , p. [167]-207, mar. 2016.

ANDREATTI FILHO, R. L., OKAMOTO, A. S., LIMA, E. T., GRATÃO, P. R., DELBEM, S. R. Efeito da microbiota cecal e do *Lactobacillus salivarius* inoculados in ovo em aves desafiadas com *Salmonella enterica* sorovar *Enteritidis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 467-471, 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA) – Relatório anual 2020. Disponível em: < [http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa\\_relatorio\\_anual\\_2020\\_portugues\\_web.pdf](http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf)> Acesso em: 02 de junho de 2020.

BEZERRA, W.G.A.; HORN, R.H.; SILVA, I.N.G. et al., Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Archivos de Zootecnia**, v.66, p.301-307, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 45, de 22 de novembro de 2016. **Proibir, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal, na forma desta Instrução Normativa.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 08 dez. 2018.

BRUNO, J. B. C., ALBUQUERQUE, R., RASPANTINI, L. E., KOBASHIGAWA3; Messias TRINDADE NETO, A., ARAUJO, L. F., RODRIGUEIRO, R. J. B. Avaliação do desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo probiótico e diferentes níveis de nucleotídeos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Sao Paulo, v. 49, n. 1, p. 5-11, 2012.

CARDOSO, M. A. B.; FLEMMING, J. S.; FLEMMING, F. F. Utilização do halquinol como promotor de crescimento e coadjuvante no controle da coccidiose em frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 1, 2002.

CARDOSO, M. B. Uso racional de antimicrobianos e novas alternativas. In: 19º SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA E 10º BRASIL SUL POULTRY FAIR, 2017, Chapecó. **Anais[...]** Chapecó: EMBRAPA. 2017. v. 89, p. 37 - 41.

COELHO, H.C. **Uso de *Bacillus subtilis* e butirato de sódio para pintos de corte vacinados com diferentes cepas vacinais contra a doença de newcastle.** 2015, 57 f. Dissertação (mestrado) — Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

DALÓLIO, F. S., MOREIRA, J., VALADARES, L. R., NUNES, P. B., VAZ, D. P., PEREIRA, H. J., PIRES, A. V., CRUZ, P. J. R. Aditivos alternativos ao uso de

antimicrobianos na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.5, n.1., p.86-94, 2015.

GIL de los SANTOS, J. R., CONCEIÇÃO, F. R., GIL-TURNES, C. Enterite necrótica aviária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.2076-2082, 2008.

IBGE. Produção de Ovos de Galinha – POG. Disponível em: URL: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9216-pesquisa-trimestral-da-producao-de-ovos-de-galinha.html?=&t=resultados>> Acesso em 09 de dezembro de 2018.

KURITZA, L. N., WESTPHAL, P., SANTIN, E. Probióticos na avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.8, p.1457-1465, 2014.

LEMOS, M.J.; CALIXTO, L.F.L.; TORRES-CORDIDO, K.A.A.; REIS, T.L.; Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 83, p. 1-7, 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-16572016000100404&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-16572016000100404&script=sci_arttext)> Acesso em 23 de fev. 2020.

MOTHCI, J. C. **Avaliação da qualidade intestinal e desempenho de frangos de corte suplementados com diferentes formas de administração de probiótico**. 2017 97 f. Dissertação (mestrado) — Universidade Federal do Paraná, Polatina, PR.

MURAROLLI, V. D. A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008 101 f. Dissertação (mestrado) — Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

PIRES, M. F. **Desempenho, qualidade de ovos e parâmetros intestinais de poedeiras leves alimentadas com rações contendo butirato de sódio protegido**. 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

ROCHA, A. P.; ABREU, R. D.; COSTA, M. C. M. M.; OLIVEIRA, G. J. C.; ALBINATI, R. C. B.; PAZ, A. S.; QUEIROZ, L. G.; PEDREIRA, T. M. Probióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v.11, n.3, p.793-801, 2010.

SILVA, C. R. D. **Resistência antimicrobiana de enterobactérias de aves migratórias no litoral paraibano**. 2018 77 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

SILVA FILHO, C.A.; CALIXTO, L.F.L.; LEMOS, M.J. et al., Qualidade de ovos convencionais e alternativos comercializados na região de Seropédica (RJ). **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.13, p.177-184, 2015

SILVA, E. N. da; FILHO, R. L. A. Probióticos e prebióticos na avicultura. II Simpósio de Sanidade Avícola. **Anais...** Santa Maria, RS, p. 45, 2000.

SORJ, B., POMPERMAYER, MJ., CORADINI, OL. **Camponeses e agroindústria: transformação social e representação política na avicultura brasileira**. Centro Edelstein de Pesquisas Sociais, Rio de Janeiro, 2008. 102 p. Disponível em <<http://books.scielo.org/id/q43wq/pdf/sorj-9788599662526.pdf>> Acesso em 02 abril de 2020.

SOUZA, C., PEGORINI, C. S., SILVA, L., VILELA, C. G., SANTOS, R. Níveis de probiótico em rações de poedeiras comerciais semi-pesadas. In. Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária – Zootecnia. 3., **Anais...** UTFPR - Campus Dois Vizinhos, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228351840> Acesso em: 08 de nov. 2018.

ZUANON, J. A. S.; FONSECA, J. B.; ROSTAGNO, H. S.; e SILVA. M. A. Efeito de Promotores de Crescimento sobre o Desempenho de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.999-1005, 1998.

## CAPITULO I – ARTIGO

### RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da alimentação com rações contendo níveis crescentes de probióticos *Bacillus subtilis* sobre o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, vilosidades intestinais e presença de *Salmonella enteritidis* em galinhas poedeiras semipesadas. O experimento teve duração de 112 dias, divididos em quatro períodos de 28 dias cada. Foram utilizadas 210 galinhas semipesadas da linhagem Hisex Brown®, com idade de 30 semanas, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado composto por seis tratamentos (rações) e sete repetições com cinco aves por unidade experimental. Os tratamentos foram ração controle negativo sem suplementação com probiótico ou antibiótico, ração controle positivo (uso do antibiótico Halquinol) e rações com suplementação de 100, 150, 200 e 250 g por tonelada de ração de aditivo probiótico *Bacillus subtilis*. Os parâmetros de desempenho zootécnico foram consumo de ração, produção de ovos-ave/dia, produção de ovos comercializáveis, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e viabilidade das aves. Para a qualidade de ovos avaliou-se o peso do ovo, gravidade específica, unidade *Haugh*, índice de gema, porcentagem dos componentes do ovo gema, albúmen e casca, espessura da casca e cor de gema. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo que, para os parâmetros significativos ao nível de 5% de probabilidade, procedeu-se a regressão polinomial. Os parâmetros de desempenho zootécnico como, consumo de ração, produção de ovos-ave/dia, produção de ovos comercializáveis, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e viabilidade das aves e de qualidade de ovos como, peso do ovo, unidade *Haugh*, índice de gema, porcentagem dos componentes do ovo (gema, albúmen e casca), espessura da casca e cor de gema e parâmetros histomorfológicos do jejuno, não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com exceção ao parâmetro de gravidade específica que, de acordo com o modelo de regressão ajustado, apresenta o menor valor com a adição de 130 gramas de *Bacillus subtilis* por tonelada de ração.

**Palavras-chave:** Aditivos. Avicultura. *Bacillus subtilis*.

## ABSTRACT

### Use of probiotic in antibiotic replacement in diets of commercial laying hens

The objective of this study was to evaluate the effect of feeding diets containing increasing levels of *Bacillus subtilis* probiotics on zootechnical performance, egg quality, intestinal villi and presence of *Salmonella enteritidis* in semi-heavy laying hens. The experiment lasted 112 days, divided into four periods of 28 days each. We used 210 semi-heavy Hisex brown ® chickens, aged 30 weeks, distributed in a completely randomized design consisting of six treatments (rations) and seven replicates with five birds per experimental unit. The treatments were negative control diet without probiotic or antibiotic supplementation, positive control diet (use of the antibiotic Halquinol) and diets with supplementation of 100, 150, 200 and 250 g per ton of probiotic additive ration *Bacillus subtilis*. The parameters of zootechnical performance were feed intake, poultry egg production/day, marketable egg production, egg mass, feed conversion per dozen and by egg mass and viability of birds. For egg quality, egg weight, specific gravity, Haugh unit, yolk index, percentage of egg yolk, albumen and shell components, shell thickness and yolk color were evaluated. The results were submitted to variance analysis, and for the significant parameters at the level of 5% probability, polynomial regression was performed. The parameters of zootechnical performance such as feed intake, bird egg production/day, production of marketable eggs, egg mass, feed conversion per dozen and by egg mass and viability of birds and egg quality such as egg weight, Haugh unit, yolk index, percentage of egg components (yolk, albumen and shell), shell thickness and yolk color and histomorphological parameters of jejunum, did not present significant differences ( $p < 0.05$ ) except for the specific gravity parameter which, according to the adjusted regression model, presents the lowest value with the addition of 130 grams of *Bacillus subtilis* per ton of ration.

**Keywords:** Additives. Poltry Farming. *Bacillus subtilis*.

## 1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos promotores de eficiência alimentar possuem um papel importante no desenvolvimento produtivo, mantendo a quantidade e tipos de bactérias benéficas no trato digestivo (VASCONCELOS et al. 2016). Entretanto o uso imprudente de promotores de crescimento de antibióticos na produção de aves relatado por Tang et al. (2017) levou ao desenvolvimento de bactérias resistentes a antibióticos e à acumulação de resíduos de antibióticos em produtos avícolas.

Ollé et al., (2017) descrevem em seu estudo que o uso de aditivos antimicrobianos como promotores de crescimento na produção animal foi restringido pela a União Europeia. Nesta mesma perspectiva, o Brasil vem limitando o uso de alguns aditivos, sendo os casos mais recentes o do sulfato de colistina, cujo armazenamento e uso em todo território nacional para alimentação animal foi proibido, de acordo a Instrução Normativa Nº 45, de 22 de novembro de 2016 (BRASIL, 2016) e da Tilosina, Lincomicina e Tiamulina, proibidos pela Instrução Normativa nº 01, de 13 janeiro de 2020.

Diversos produtos estão sendo avaliados como forma de substitutos ao antimicrobianos adicionados na alimentação animal, como ácidos orgânicos, óleos essenciais, extratos vegetais, probióticos, prebióticos e simbióticos. Dentre estes, os probióticos são responsáveis por diversos estudos na alimentação animal, isto porque estes probióticos podem produzir benefícios no hospedeiro, melhorando de forma ativa a utilização de nutrientes.

Pesquisas demonstram que probióticos administrados para galinhas poedeiras durante o ciclo de produção podem melhorar as características de desempenho e qualidade de ovos (NUNES et al., 2013). Este fato sugere que os probióticos podem ser uma alternativa viável na substituição de aditivos promotores de eficiência alimentar a base de antibióticos na alimentação desses animais.

Os *Bacillus subtilis* são exemplos de probióticos que vem sendo estudados com frequência, devido as suas grandes vantagens que vão desde o mecanismo de ação no hospedeiro referente à sua capacidade de esporular, até a capacidade de se manter viável na produção e armazenamento de rações.

No entanto, os resultados de pesquisas sobre a utilização de probióticos em

galinhas ainda são alvo de contradições e, com isso, faz-se necessário a condução deste trabalho, cujo objetivo é avaliar o desempenho zootécnico, qualidade de ovos, parâmetros histológicos intestinais e presença bacteriológica dos ovos de galinhas poedeiras semipesadas alimentadas com rações adicionadas de probiótico.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local, aves, dietas e manejo**

O experimento foi conduzido com duração total de 112 dias entre os dias 09/02/2019 e 01/06/2019, divididos em quatro períodos de 28 dias cada, sendo realizado no Laboratório de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais (IFMG) - Campus Bambuí e foi registrado e aprovado no Comitê de Ética de Uso de Animais em Experimentação – (CEUA) sob o nº 14/2018.

Foram utilizadas 210 galinhas poedeiras da linhagem Hisex Brown®, com 30 semanas de idade. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos e sete repetições. As aves foram alojadas em galpão com telha de cerâmica dispostas em 42 gaiolas metálicas medindo 50 cm de frente e 45 cm de profundidade com cinco aves por gaiola, proporcionando 450 cm<sup>2</sup> por ave. As gaiolas foram providas de comedouros individuais tipo calha e bebedouros tipo *nipple* com fornecimento de água e ração *ad libitum*.

### **2.2 Dietas utilizadas e manejo dos animais**

Os tratamentos consistiram em Controle positivo – ração basal com a inclusão de promotor de eficiência alimentar antimicrobiano (Clorohidroxiquilina – Halquinol 60% com nível de inclusão de 50 g/t de ração), Controle negativo – ração basal sem a inclusão de promotor de crescimento antimicrobiano e sem probiótico, Controle

negativo + 100 g/t de ração do probiótico (*Bacillus subtilis* 2,0 x10<sup>6</sup> UFC/kg), Controle negativo + 150 g/t de ração do probiótico, Controle negativo + 200 g/t de ração do probiótico, Controle negativo + 250 g/t do probiótico.

Os níveis de suplementação do probiótico e do antimicrobiano foram adicionados na ração da forma “*on top*” e a ração foi homogeneizada utilizando-se de um misturador vertical com capacidade para 300 kg de mistura de ração por um tempo de 10 minutos.

A dieta basal (Tabela 1) foi formulada de acordo com as exigências nutricionais indicadas por Rostagno et al. (2017) para galinhas poedeiras semipesadas na fase de postura e formuladas utilizando o programa Optimal 2000 com matriz nutricional de empresa de fabricação de ração comercial.

O manejo diário consistiu em realizar arraçoamento, recolher e contabilizar os ovos (foram computados diariamente o número de ovos quebrados, trincados, com casca mole e sem casca), além de realizar, a cada 15 minutos, leituras das temperaturas e de umidade relativa do ar (UR), com auxílio do aparelho *datalogger* Modelo HT70 Instrutherm. As médias das temperaturas e umidade relativa do ar durante os períodos experimentais foram de 23,21° C e 80,37 UR, respectivamente.

A iluminação artificial foi controlada por um relógio automático (*timer*), permitindo acender e apagar luzes do galpão durante todo o período experimental, totalizando fornecimento de 17 horas diárias de fotoperíodo, conforme procedimento adotado em granjas comerciais e em conformidade com a recomendação dos Padrões 2014/17BR do HFAC (*Humane Farm Animal Care*) para a Produção de Galinhas Poedeiras que indica período mínimo de seis horas de escuridão contínua.

Tabela 1 – Composição nutricional da dieta basal.

<b>Composição da ração basal (%)</b>	
Milho em grãos	60,11
Farelo de Soja	25,62
Óleo de soja refinado	2,15
Calcário calcítico fino	1,00
Calcário calcítico grosso	4,68
Fosfato bicálcico	1,15
Sal comum	0,23
DL Metionina	0,06
*Núcleo	5,00
<b>Níveis nutricionais calculados</b>	
Umidade (%)	11,27
E.Met. Aves (Kcal/kg)	2777,02
Proteína Bruta (%)	16,37
Fibra Bruta (%)	3,12
Metionina Dig. (%)	0,40
Lisina Digl. (%)	0,84
Treonina Dig. (%)	0,62
Triptofano Dig. (%)	0,19
Met+Cis.Dig. aves (%)	0,54
Gordura (%)	4,68
Cálcio (%)	3,50
Fósforo (%)	0,71
Fósf.Disp.aves (%)	0,31
Sódio (%)	0,24

\*Níveis de garantia do núcleo por kg do produto: cálcio (máx.) 280 g, cálcio (mín.) 240 g, fósforo (mín.) 30 g, sódio (mín.) 25 g, metionina (mín.) 16 g, colina (mín.) 6.000 mg, vitamina A (mín.) 200.000 UI, vitamina D3 (mín.) 50.000 UI, vitamina E (mín.) 150 UI, vitamina K3 (mín.) 50 mg, vitamina B1 (mín.) 50 mg, vitamina B2 (mín.) 130 mg, vitamina B6 (mín.) 40 mg, vitamina B12 (mín.) 360 µg, pantotenato de cálcio (mín.) 180 mg, niacina (mín.) 400 mg, biotina (mín.) 2 mg, ácido fólico (mín.) 20 mg, ferro (mín.) 1.000 mg, cobre (mín.) 600 mg, cobalto (mín.) 5 mg, iodo (mín.) 20 mg, manganês (mín.) 1.400 mg, zinco (mín.) 1.200 mg, selênio (mín.) 4 mg, fitase 10.000 FTU.

### 2.3 Parâmetros avaliados

Foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico das aves, de qualidade interna e externa dos ovos, altura das vilosidades intestinais e profundidade de cripta da porção jejuno do intestino e analisada a presença de *Salmonella enteritidis* por meio de análises das excretas e dos ovos.

Com relação aos parâmetros de desempenho zootécnico foram avaliados o consumo de ração, produção de ovos-ave/dia, produção de ovos comercializáveis, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e viabilidade das aves.

A cada período de 28 dias, as sobras de ração de cada unidade experimental (gaiola) foram recolhidas dos cochos, adicionadas nos baldes de cada repetição e pesadas em balança eletrônica com precisão de 50 g. Após a pesagem as sobras foram subtraídas pela quantidade de ração fornecida no início do período, obtendo-se o consumo de ração (g/ave/dia).

A produção de ovos-ave/dia foi obtida computando-se o número total de ovos produzidos, incluindo os quebrados, os trincados e os anormais (ovos com casca mole e sem casca) divididos pelos dias do período e pelo número de aves da parcela experimental multiplicado por 100, sendo expressa em porcentagem, de acordo com seguinte fórmula: Produção de ovos/ave/dia =  $n^{\circ}$  total de ovos produzidos/ $n^{\circ}$  dias/ $n^{\circ}$  aves da parcela experimental x 100.

Em caso de morte de ave em alguma parcela experimental foi utilizado a correção para consumo e produção de ovos com base na metodologia de Sakomura e Rostagno (2016).

A produção de ovos comercializáveis, em cada período de 28 dias, foi determinada considerando-se os ovos íntegros, descartando-se os ovos quebrados, trincados, com casca mole e sem casca da produção total de ovos. Essa produção, expressa em porcentagem, foi obtida por meio da equação: Produção de ovos comercializáveis (%) =  $n^{\circ}$  de ovos íntegros produzidos/ $n^{\circ}$  dias/ $n^{\circ}$  aves da parcela experimental x 100.

Já a conversão alimentar por dúzia de ovos foi calculada pela relação do consumo total de ração, em kg, dividido pelas dúzias de ovos produzidas (kg de

ração/dúzia de ovos), enquanto a conversão alimentar por massa de ovos calculada pelo consumo de ração, em quilogramas, dividido pela massa total de ovos (kg de ração/kg de ovos).

A mortalidade das aves foi monitorada diariamente e, no final do período experimental, foi obtida a taxa de viabilidade das aves, calculada pela diferença entre o número de aves vivas no início do período experimental e o número de aves mortas durante o experimento, sendo este quantitativo expresso em porcentagem.

Para a avaliação da qualidade dos ovos, foram analisados os parâmetros peso do ovo, gravidade específica, unidade *Haugh*, índice de gema, porcentagem dos componentes do ovo (gema, albúmen e casca), espessura da casca e cor de gema.

No 25º, 26º e 27º dia de cada período foram coletados todos os ovos íntegros, dos quais foram selecionados aleatoriamente 4 ovos de cada unidade experimental para pesagem e obtenção do peso médio. Os ovos de cada unidade e de cada dia foram pesados individualmente em balança com precisão de 0,001 g e o seu peso registrado em planilha. Em seguida, cada ovo foi pesado imerso em água destilada com auxílio de equipamento adaptado conforme metodologia descrita por Barbosa (2011), obtendo-se a gravidade específica por meio do seguinte cálculo:

$$\text{Gravidade específica} = \frac{(\text{Peso do ovo no ar})}{(\text{Peso do ovo no ar} - \text{Peso do ovo em água})}$$

Posteriormente, os ovos de cada unidade experimental e de cada dia foram quebrados sob bancada lisa e plana e, logo após, realizou-se a mensuração da altura do albúmen com auxílio de um paquímetro digital da marca Starrett® modelo 798 para a determinação das unidades *Haugh* (*UH*), por meio da fórmula (*HAUGH*, 1937):

$$UH = 100 * \log (h + 7,57 - 1,7 * W^{0,37})$$

em que h = altura do albúmen denso (mm) e W = peso do ovo (g).

Em seguida, foi mensurada a altura e a largura da gema com auxílio do paquímetro acima descrito para determinar o Índice de Gema (IG), o qual foi obtido por meio da razão entre a altura e a largura da gema. Logo após foi determinado a cor da gema com equipamento e software Digital YolkFan™ - DSM, em escala de cores de 1 a 16.

Após as medições, a gema foi separada e seu peso registrado em balança com precisão de 0,001 g da marca Marte® modelo AD4200. O peso do albúmen foi obtido pela diferença entre o peso do ovo e a soma dos pesos da gema e da casca, sendo este último obtido após lavagem da casca e posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar (60°C) por 24 horas. A porcentagem de albúmen, gema e casca foi obtida dividindo-se os pesos dos respectivos componentes pelo peso do ovo e o resultado multiplicado por 100.

A espessura da casca foi mensurada com o auxílio do micrômetro digital da marca Digimess® modelo IP54, após a secagem e pesagem da casca. Foram feitas medidas de fragmentos da casca nos dois polos e no meio do ovo. Determinou-se a espessura da casca de cada unidade experimental por meio da média aritmética dessas três medidas.

Para mensuração da altura de vilosidade e profundidade de cripta, as aves foram eutanasiadas no último dia do período experimental, com 46 semanas de idade. As aves foram abatidas por deslocamento cervical no abatedouro do IFMG, Campus Bambuí, seguindo orientações da Resolução Normativa CONCEA Nº 37/2018 – Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

Coletou-se e analisou-se amostras de jejuno de uma ave por parcela, totalizando 42 animais, conforme adaptações da metodologia descrita por Reis et al. (2016). Cada fragmento do intestino delgado (jejuno) coletado foi mantido em solução de formaldeído tamponado a 10% para sua fixação, por 24 horas, e depois mantidas em álcool etílico 70%. Após a fixação, as peças foram enviadas para o laboratório de Biologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) para serem desidratadas em bateria de álcool etílico em concentrações crescentes (70%, 80%, 90% e absoluto), seguida de diafanização com xilol e inclusão em parafina em estufa a 60°C. Os blocos de parafina foram enviados ao laboratório de Histopatologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFV para realização da microtomia e,

posteriormente, os cortes histológicos foram corados com HE (hematoxilina e eosina) em lâminas. As lâminas coradas foram fotografadas através de um microscópio da marca Olympus modelo CX31 óptico acoplado a um sistema de captura de imagens, também da marca Olympus modelo SC30, no laboratório de citologia/histologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram medidos 10 vilos distintos de cada fragmento (TENÓRIO, 2015) por meio do *software* Image J®, totalizando 420 medições.

As análises bacteriológicas foram realizadas nas excretas e nos ovos por meio de kits comerciais Petrifilm 3M® específicos para detecção de presença ou ausência de *Salmonella enteritidis*. Foram selecionados três ovos de cada repetição para a realização das análises microbiológicas no primeiro e no último dia experimental. Realizou um “*pool*” de amostras de duas repetições por tratamento, totalizando 12 amostras no início e 12 amostras no final do experimento.

## 2.4 Análise estatística

As análises estatísticas de desempenho e qualidade de ovos foram realizadas com a média dos quatro ciclos de 28 dias, enquanto para os dados das análises histológicas do intestino (último dia experimental) e microbiológicas dos ovos e das excretas foram utilizados aqueles obtidos em cada dia de coleta (primeiro e último dia experimental).

A igualdade dos tratamentos foi testada por meio da análise de variância e, quando a mesma apontou diferenças entre os tratamentos, procedeu-se o teste Dunnett para realizar as comparações que envolviam o tratamento Controle positivo ou o Controle negativo. Já as diferenças entre os níveis de inclusão de *Bacillus subtilis* foi mensurada por meio da análise de regressão linear polinomial, considerando os modelos de primeiro grau e quadrático. As suposições de normalidade e homogeneidade de variância dos resíduos, necessárias para execução da análise de variância, foram avaliadas, respectivamente, pelo teste Shapiro-Wilk e Bartlett, sendo considerado, em todos os testes, o nível de 0,05 de significância.

Para os parâmetros índice de gema (IG) e conversão alimentar por massa de ovos (CA/kg) houve violação da suposição de homogeneidade de variância,

enquanto o parâmetro Viabilidade não atendeu a suposição de normalidade. Devido a isso, para estes parâmetros, procedeu-se a aplicação do teste não paramétrico Kruskal-Wallis, também ao nível de 0,05 de significância.

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do *software* estatístico R (R CORE TEAM, 2019).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Parâmetros de desempenho das aves**

A inclusão crescente de probiótico *Bacillus subtilis* na alimentação de poedeiras semipesadas não influenciou ( $P>0,05$ ) os parâmetros de produção de ovos, ovos comercializáveis, massa de ovos, consumo de ração, conversão alimentar por dúzia e por quilograma de ovos e a viabilidade das aves (Tabela 2).

De modo semelhante, Nunes et al. (2013) não encontraram diferenças significativas com relação aos parâmetros de consumo de ração, produção por ave/dia, produção por ave alojada e conversão alimentar ao utilizar probióticos na ração de poedeiras semipesadas no ciclo final de postura. Pedroso et al. (2001), ao administrar probiótico a base de *Bacillus subtilis* à ração de poedeiras semipesadas com 50 semanas de idade, também não observaram diferenças no consumo de ração, produção de ovos peso dos ovos e conversão alimentar por dúzia e quilograma de ovos. Em outro estudo conduzido com o uso de probiótico a base de *Saccharomyces cerevisiae* em poedeiras leves de 13 semanas de idade, Hashim et al. (2013) não observaram diferenças na produção de ovos. Entretanto, Fathi et al. (2018) encontraram diferenças significativas no consumo de ração de galinhas poedeira de três raças distintas (Leghorn Branco, Preto e Marrom) de 36 semanas, onde os grupos que receberam probióticos *Bacillus subtilis* foram menores em comparação ao grupo controle.

Tabela 2 – Produção de ovos (PO), ovos comercializáveis (OC), massa de ovos (MO), consumo de ração (CR), conversão alimentar por dúzia de ovos (CA/DZ) e conversão alimentar por massa de ovos (CA/kg) e viabilidade (VB) de galinhas poedeiras recebendo diferentes níveis de suplementação de probiótico a base de *Bacillus subtilis* no período de 30 a 46 semanas de idade.

Parâmetro	Níveis de inclusão do probiótico a base de <i>Bacillus subtilis</i>						Valor p	CV <sup>7</sup> (%)
	CP <sup>1</sup>	0 g/t <sup>2</sup>	100 g/t <sup>3</sup>	150 g/t <sup>4</sup>	200 g/t <sup>5</sup>	250 g/t <sup>6</sup>		
<b>PO (%)</b>	94,62	95,18	95,87	95,29	95,93	96,40	0,3691	1,67
<b>OC (%)</b>	93,67	94,16	94,45	94,23	95,00	95,71	0,4005	1,95
<b>MA (g)</b>	59,97	61,11	61,89	60,80	61,55	61,74	0,1288	2,27
<b>CR (g/ave/dia)</b>	117,14	118,00	119,18	118,60	120,34	119,84	0,7934	3,83
<b>CA/DZ (kg/dúzia ovos)</b>	1,486	1,489	1,492	1,488	1,506	1,493	0,990	3,88
<b>CA/kg (kg/kg ovos)</b>	1,955	1,934	1,927	1,954	1,957	1,944	0,9537	3,59
<b>VB (%)</b>	100,00	100,00	99,29	98,33	98,39	100,00	0,6227	2,48

<sup>1</sup>CP = ração Controle Positivo com inclusão de antibiótico (Halquinol (Clorohidroquinolina) 60%); <sup>2</sup>0 g/t: ração controle negativo sem a inclusão de promotor de crescimento antimicrobiano e sem probiótico, <sup>3</sup>100 g/t: ração controle negativo suplementada com 100 g/t de ração do probiótico (*Bacillus subtilis* 2,0 x10<sup>6</sup> UFC/kg), <sup>4</sup>150 g/t: ração controle negativo + 150 g/t de ração do probiótico, <sup>5</sup>200 g/t: ração controle negativo + 200 g/t de ração do probiótico, <sup>6</sup>250 g/t: ração controle negativo + 250 g/t do probiótico. <sup>7</sup>CV = coeficiente de variação (%)

Bonsu et al. (2014) e Pérez et al. (2012) observaram maior produção de ovos e maior peso dos ovos ao adicionar probióticos na dieta de galinhas. Ribeiro Junior (2011) também observou aumento na produção de ovo ao administrar probióticos *Bacillus subtilis* na dieta de poedeiras comerciais da linhagem Hy-Line W-36 de 25 a 45 semanas de idade.

Por outro lado, Deng et al. (2012) observaram que a produção média de ovos de galinhas semipesadas de 56 semanas de idade, inseridas nos grupos que receberam probióticos *Bacillus licheniformis* diminuiu durante o período experimental redução na .

Em três estudos conduzido por EFSA (2015) a quantidade de ração necessária para produzir uma unidade de massa de ovos foi significativamente menor, ou seja, houve uma melhor conversão alimentar por massa de ovos, quando adicionaram probióticos *Bacillus subtilis*. O mesmo foi relatado por Silva et al. (2003), que ao utilizar probiótico na alimentação de poedeiras semipesadas com 24 meses de idade antes da muda forçada, encontraram melhor conversão alimentar em relação ao grupo controle e grupo com antimicrobiano.

Diferentemente, Sobczak et al. (2015) não encontraram efeito significativos na conversão alimentar de poedeira semipesadas de 18 a 42 semanas de idade suplementadas com probiótico *Bacillus subtilis*.

Sabe-se que a idade exerce forte influência sobre a morfologia do trato gastrointestinal das aves e que as aves mais velhas, tendem a diminuir a digestão e absorção de nutrientes. Assim a conversão alimentar também é influenciada pela idade das aves e visto que no presente experimento as galinhas estavam com 30 semanas de idade e em pleno pico de postura (95,6%) e de acordo com os dados disponíveis no Guia de produto *Hisex Brown* (2018). Estes fatores alinhados a nutrição balanceada e dentro das exigências de tabelas e manuais, podem ter contribuído para falta de resultados positivos da adição de probióticos.

Acredita-se também que a falta de desafio sanitário, adequado manejo sanitário do aviário e a vacinação em dia podem ter sido fatores determinantes para não se observar resultados favoráveis à utilização do probiótico em detrimento a sua não utilização sobre os parâmetros de desempenho produtivo.

### **3.2 Parâmetros de qualidade de ovos**

Ao analisar os parâmetros relacionados à qualidade dos ovos, verifica-se que a adição de níveis crescente de probiótico nas rações de poedeiras semipesadas de postura não influenciou ( $P>0,05$ ) os resultados de peso dos ovos, índice de gema, porcentagem de gema, porcentagem de albúmen, porcentagem de casca, espessura de casca, unidade *Haugh* (UH) e cor da gema (Tabela 3).

Tabela 3 – Peso dos ovos (PO), gravidade específica (GE), índice de gema (IG), porcentagem de gema (PG), porcentagem de albúmen (PA), porcentagem de casca (PC), espessura de casca (EC), unidades *Haugh* (UH) e cor da gema (CG) segundo a inclusão de probiótico

Parâmetro	Níveis de inclusão de <i>Bacillus subtilis</i>							Valor p	CV (%)
	CP	0 g/t	100 g/t	150 g/t	200 g/t	250 g/t	250 g/t		
<b>PO (g)</b>	64,19	63,38	64,58	63,48	64,17	64,04	64,04	0,638	2,29
<b>GE (g/cm<sup>3</sup>) *</b>	1,084	1,085	1,083	1,084	1,085	1,084	1,084	0,049	0,19
<b>IG (%)</b>	0,349	0,35	0,351	0,354	0,354	0,356	0,356	0,160	1,62
<b>PG (%)</b>	24,33	24,59	24,12	24,85	24,53	24,66	24,66	0,147	2,10
<b>PA (%)</b>	66,6	66,02	66,7	66,87	66,13	66,02	66,02	0,144	1,03
<b>PC (%)</b>	9,07	9,392	9,184	9,283	9,343	9,314	9,314	0,298	2,98
<b>EC (mm)</b>	0,386	0,39	0,39	0,388	0,393	0,397	0,397	0,461	2,80
<b>UH</b>	96,27	95,44	95,87	95,02	94,96	95,51	95,51	0,515	1,44
<b>CG</b>	4,686	4,871	4,671	4,700	4,886	4,814	4,814	0,541	5,94

CP = Controle Positivo CV = coeficiente de variação (%); \* As médias não diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de significância.

Os resultados encontrados concordam com Pedroso et al. (2001) e, que também não encontraram diferenças significativas no peso dos ovos, porcentagem de casca, espessura de casca e unidade Haugh (UH) com a utilização de probiótico

a base de *Bacillus subtilis*. Semelhante Sobczak et al. (2015) e Souza et al. (2014) não observaram diferenças no peso dos ovos de poedeiras comerciais, de 16 a 32 semanas de idade suplementadas com probióticos.

Em contrapartida, Ribeiro Junior (2011) observou maior peso do ovo após utilizar diferentes níveis de probióticos *Bacillus subtilis* na dieta de poedeiras leves de 25 a 45 semanas de idade.

Já Nunes et al. (2013), ao utilizarem dietas com probiótico a base de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum*, e Mikulski et al. (2012) usando probiótico (*Pediococcus acidilactici*) não verificaram qualquer benefício na utilização do probiótico na porcentagem de gema, albúmen e casca, índice de gema, cor da gema e unidade *Haugh*.

Giampaulli, et al. (2005) também não encontraram efeito significativo da utilização de probiótico na ração de poedeiras leves pós-muda, de 70 a 90 semanas de idade, sobre a porcentagem de casca. De modo semelhante Khan, et al. (2011) também não observaram efeito significativo ao utilizar probiótico multi cepas na alimentação de poedeiras leves de 40 semanas de idade na espessura e peso da casca.

No presente trabalho, a adição de níveis crescentes de probióticos (*Bacillus subtilis*) na ração das poedeiras não promoveu efeitos ( $P>0,05$ ) na espessura da casca. As galinhas utilizadas neste experimento estavam com 30 semanas de idade, no seu atual pico de postura e em plena capacidade de deposição de cálcio na casca dos ovos conforme relatado por Carvalho et al. (2007), alinhado ao fato de outros parâmetros como consumo de ração, altura e profundidade de vilos não apresentaram resultados significativos podem explicar a falta de resultados na espessura da casca. A espessura da casca pode variar de acordo com vários fatores, como altas temperaturas que contribui para redução dos níveis de cálcio no sangue, a hereditariedade, a idade da ave e a nutrição (SACCOMANI, 2015). De forma semelhante Giampaulli, et al. (2005) e Behnamifar et al. (2015) também não observaram efeito significativo na espessura da casca ao utilizar probiótico na ração de poedeiras leves pós-muda forçada.

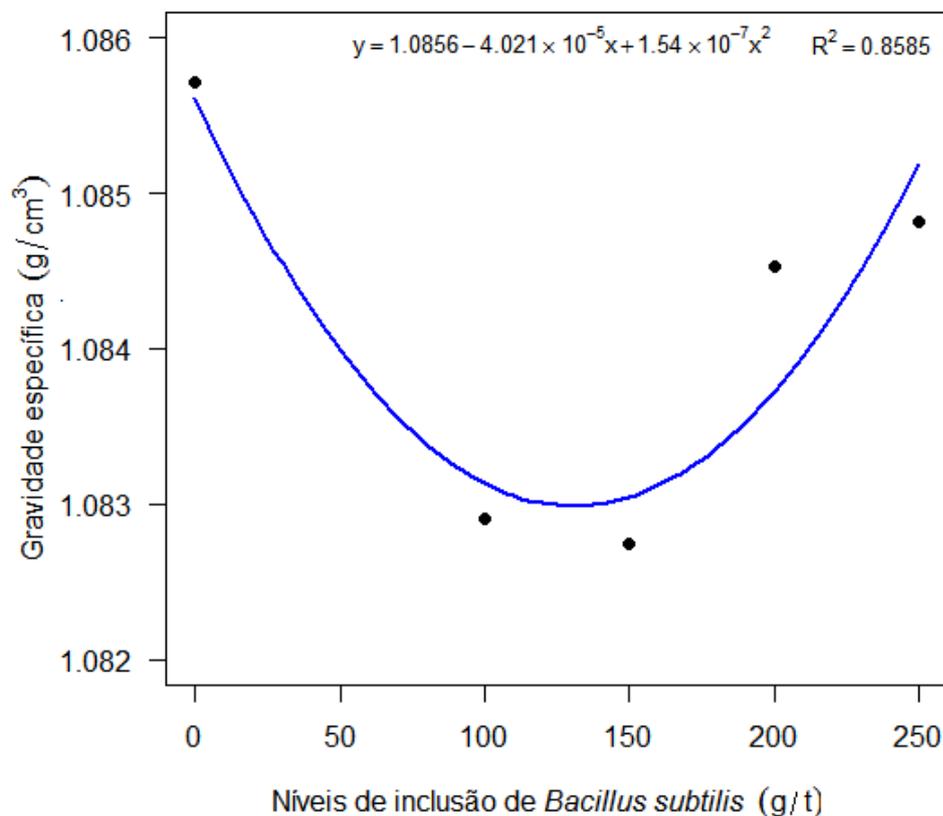
Porém, ao analisar a gravidade específica, observou-se efeito ( $P<0,05$ ) do uso do probiótico, de modo que o comportamento da gravidade específica dos ovos

em função da inclusão gramas de *Bacillus subtilis* pode ser descrita por um modelo linear de regressão quadrática (Gráfico 1). De acordo com este ajuste, o valor de gravidade específica mínimo é obtido com a inclusão de 130 gramas de probiótico.

A gravidade específica do ovo é apurada conforme os princípios de Arquimedes, que determina o peso do ovo no ar e o peso da água deslocada pelo ovo quando totalmente submerso, assim, é considerado que maior gravidade específica resulta em melhor qualidade de casca (SANTOS, 2016). Com isso, Fernandes et al. (2015) e Harder et al. (2008) argumentam que a densidade dos ovos não pode ser inferior a 1,080.

Conforme o modelo ajustado, o menor valor de gravidade específica, obtido com a inclusão de 130 g/t de *Bacillus subtilis* à ração, é 1,083 g/cm<sup>3</sup> e, uma vez que não atingiu o mínimo de 1,080 g/cm, o parâmetro de gravidade específica é considerado de qualidade em todo o intervalo de inclusão analisado.

Gráfico 1 – Ajuste do modelo linear de regressão quadrática para a gravidade específica de ovos em função do nível de inclusão de probiótico a base de *Bacillus subtilis*.



Fonte: Dados da pesquisa.

Corroborando parcialmente com os encontrados, Nunes et al. (2013) observaram que a inclusão de 0,10% de probiótico à base de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum* foi menor em comparação com 0% de inclusão, para a variável gravidade específica, afetando negativamente a qualidade do ovo.

Esse fato difere dos resultados encontrados por Giampaulli et al. (2005) que, ao adicionar probióticos na alimentação de poedeiras leves com 66 semanas de idade, não encontraram diferenças significativas ao analisar o parâmetro gravidade específica. O mesmo foi observado por Silva et al. (2003), que não observaram diferenças entre a gravidade específica de ovos ao adicionar probióticos na alimentação de poedeiras semipesadas após muda forçada.

Segundo Pedroso et al. (2001), alguns autores atribuem a falta de eficiência do uso de probióticos e prebióticos na alimentação das aves devido às boas condições sanitárias na ocasião dos experimentos, bem como a falta de desafios sanitários e as adequadas condições de manejo podem ter interferido na obtenção de resultados favoráveis à utilização desses agentes.

Vale ressaltar que, nas condições em que o presente experimento foi conduzido, as aves estavam saudáveis, as vacinações das galinhas estavam em dia, sem um fator estressante como estresse térmico, densidade ou nutricional, desafio sanitário e desafio com microrganismo que poderiam afetar a produtividade, assim, a adição do probiótico *Bacillus subtilis* do presente trabalho não apresentou efeito significativo sobre o desempenho produtivo e algumas características de qualidade dos ovos.

### **3.3 Análise histomorfométrica**

Os níveis crescentes de probióticos *Bacillus subtilis* não influenciaram significativamente ( $P>0,05$ ) a altura de vilos e profundidade de cripta da porção intestinal jejuno (Tabela 4).

Tabela 4 – Altura de vilos (AV) e profundidade (PC) de cripta de jejuno de intestino de galinhas poedeiras com 46 semanas de idade submetidas a diferentes dietas experimentais no período de 30 a 46 semanas de idade.

Parâmetro	Níveis de inclusão de <i>Bacillus subtilis</i>						Valor p	CV (%) <sup>7</sup>
	CP <sup>1</sup>	0 g/t <sup>2</sup>	100 g/t <sup>3</sup>	150 g/t <sup>4</sup>	200 g/t <sup>5</sup>	250 g/t <sup>6</sup>		
AV (µm)	424,02	430,52	412,15	412,18	452,20	464,50	0,8352	20,47
PC (µm)	87,94	88,57	91,79	82,81	89,64	87,21	0,9633	21,24

<sup>1</sup>CP = ração Controle Positivo com inclusão de antibiótico (Halquinol (Clorohidroquinolona) 60%); <sup>2</sup>0 g/t: ração controle negativo sem a inclusão de promotor de crescimento antimicrobiano e sem probiótico, <sup>3</sup>100 g/t: ração controle negativo suplementada com 100 g/t de ração do probiótico (*Bacillus subtilis* 2,0 x10<sup>6</sup> UFC/kg), <sup>4</sup>150 g/t: ração controle negativo + 150 g/t de ração do probiótico, <sup>5</sup>200 g/t: ração controle negativo + 200 g/t de ração do probiótico, <sup>6</sup>250 g/t: ração controle negativo + 250 g/t do probiótico. <sup>7</sup>CV = coeficiente de variação (%)

As condições em que o presente experimento foi conduzido, nas quais as aves não foram desafiadas com nenhum agente a nível intestinal e as boas condições sanitárias do aviário, podem ser apontadas como fatores capazes de explicar as inconclusões histomorfológicas encontradas.

Os resultados encontrados assemelham-se aos alcançados por Lopes (2014), uma vez que este não observou efeitos significativos no jejuno e no íleo após a inclusão de níveis de probiótico *Saccharomyces cerevisiae* adicionados à dieta de galinhas poedeiras com idade inicial de 51 semanas. Sob esta mesma ótica, Santos (2013) também não encontrou diferenças significativas na altura de vilos e profundidade de cripta da porção jejuno de frangos de corte da linhagem *Cobb Slow* fêmeas, com uso de probióticos na alimentação e desafiados com *Salmonella enteritidis*. O mesmo se pode dizer sobre os resultados encontrados por Pelicano et al. (2003), os quais não apontaram alterações nas vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade, submetidos a dietas contendo diferentes probióticos.

Por outro lado, Lei et al. (2013) adicionando diferentes níveis de *Bacillus licheniformis* para poedeira leves de 28 semanas de idade aumentou significativamente a altura de vilos e diminuiu a profundidade da cripta da porção jejuno. Já Vieira et al. (2018), em um estudo com frango de corte aos 21 dias de

idade, verificaram que a altura média dos vilos no jejuno de apresentou-se menor no tratamento que recebeu dieta com probiótico comercial, quando comparado ao probiótico fúngico *Rhizomucor spp.*

### 3.4 Análise microbiológica

Para os parâmetros de microbiológicos não foram encontrados presença de *Salmonella sp* em 25 g de ovos e nas excretas das aves em análises realizadas no início e final do presente experimento.

A presença da *Salmonella sp.* no interior do ovo está relacionado com migração a partir da casca contaminada e é conhecido que os poros da casca dos ovos permitem esta penetração de salmonelas (OLIVEIRA; SILVA, 2000).

Para minimizar esta ocorrência em 11 de abril de 2013, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa no 10 que estabelece o monitoramento de *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium* em granjas de postura comercial e a vacinação com vacina viva para *Salmonella enteritidis*, no incubatório ou na fase de recria das aves (MORAES, 2014).

Contudo, o fato da ausência de *Salmonella sp.* pode ser explicado pelo fato das boas condições sanitárias mantidas no aviário e pelo manejo sanitário implantado para atendimento aos requisitos exigidos de órgãos sanitário estadual e federal.

## 4 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais adotadas, os níveis de suplementação de probióticos à base de *Bacillus subtilis* nas rações de galinhas poedeiras semipesadas não apresentaram efeito sobre o desempenho produtivo e a qualidade de ovos, com exceção ao parâmetro de gravidade específica que, de acordo com o modelo de regressão ajustado, apresenta o menor valor com a adição de 130 gramas de *Bacillus subtilis* por tonelada de ração.

Por fim, os parâmetros morfológicos intestinais de galinhas poedeiras semipesadas também não foram influenciados pela adição crescente de probióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, V. M. **Efeitos do momento de transferência para o nascedouro e da idade da matriz pesada sobre o status fisiológico de embriões e pintos, rendimento da incubação e desempenho da progênie.** 2011 117 f. Tese (Doutorado) — Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- BEHNAMIFAR, A.; RAHIMI, S.; KARIMI, T. M. A. Effect of Probiotic, Thyme, Garlic and Caraway Herbal Extracts on the Quality and Quantity of Eggs, Blood Parameters, Intestinal Bacterial Population and Histomorphology in Laying Hens. **Journal of Medicinal Plants and By-products**, v.4, n.1, p.121-128, 2015.
- BONSU, F. R. K., DONKOH A., OSEI S. A., OKAI D. B., BAAH J. Direct-fed microbial on the health status, productive performance and internal egg characteristics of layer chickens under hot humid environmental conditions. **African Journal of Agricultural Research**. v. 9, p. 14-20, 2014.
- DENG, W., DONG, X. F., TONG, J. M., ZHANG, Q. The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poultry science*, v.91, n.3, p.575-582, 2012.
- EFSA PANEL ON ADDITIVES AND PRODUCTS OR SUBSTANCES USED IN ANIMAL FEED (FEEDAP). Safety and efficacy of Calsporin® (*Bacillus subtilis* DSM 15544) as a feed additive for laying hens and avian species for laying. **EFSA Journal**, v. 13, n. 9, p. 4231, 2015.
- FATHI, M., AL-HOMIDAN, I., AL-DOKHAIL, A., EBEID, T., ABOU-EMERA, O., ALSAGAN, A. Effects of dietary probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on productive performance, immune response and egg quality characteristics in laying hens under high ambient temperature, **Italian Journal of Animal Science**, vol. 17, n. 3, p. 804–814, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1425104>> acesso em: 18 janeiro de 2020.
- FERNANDES, D.P.B., MORI, C., NAZARENO, A.C., PIZZOLANTE, C.C., MORAES, J.E. Qualidade interna de diferentes tipos de ovos comercializados durante o inverno e o verão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.4, p.1159-1165, 2015.
- GIAMPAULLI, J.; PEDROSO, A.A.; MORAES, V.M.B. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras após a muda forçada suplementadas com probiótico em diferentes fases de criação. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p.179-186, 2005.
- HARDER, M. N. C., BRAZACA, S. G. C., SAVINO, V. J. M., COELHO, A. A. D. Efeito de Bixa Orellana na alteração de características de ovos de galinhas. **Ciência Agrotecnologia**., Lavras, v.32, n.4, p. 1232-1237, 2008.

HASHIM, M.; Fowler, J.; Haq, A.; Bailey, C.A. Effects of yeast cell wall on early production laying hen performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.4, p.792-797, 2013.

KHAN, S. H.; ATIF, M.; MUKHTAR, N.; REHMAN, A.; FAREED, G. Effects of supplementation of multi-enzyme and multi-species probiotic on production performance, egg quality, cholesterol level and immune system in laying hens. **Journal of Applied Animal Research**, v.39, n.4, p. 386-398, 2011.

LEI, K., LI, Y. L., YU, D. Y., RAJPUT, I. R., LI, W. F. Influence of dietary inclusion of *Bacillus licheniformis* on laying performance, egg quality, antioxidant enzyme activities, and intestinal barrier function of laying hens. **Poultry science**, v.92, n.9, p.2389-2395, 2013.

LOPES, C.C. **Padronização e uso da levedura em rações para aves**. 2014 158 f. Tese (Doutorado) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PB.

MIKULSKI, D.; JANKOWSKI, J.; NACZMANSKI, J.; MIKULSKA, M.; DEMEY, V. Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. **Poultry Science Association Inc.** v.91, n.10 p. 2691-2700, 2012.

MORAES, D. M. C. **Investigação bacteriológica e molecular de *Salmonella* sp. em granjas de postura comercial**. 2014. 95 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

NUNES, R. V., SCHERER, C., SILVA, W. T. M., APPELT, M. D., POZZA, P. C., VIEITES, F. M. Avaliação de probiótico na alimentação de poedeiras comerciais no segundo ciclo de postura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.1, p.248-254, 2013.

OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.6, p.655-661, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352000000600017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352000000600017&lng=en&nrm=iso)>. acesso em 02 abril 2020.

OLLÉ, M. A.; GROFF, P. M.; RUAS, M. S.; OLLÉ, F. A.; FLUCK, A. C.; SILVEIRA, R. F.; ALFAYA, H.; Uso de antibióticos na alimentação de suínos. Revisão de literatura. **RETVET - Revista electrónica de Veterinária**. v.18, n.10, 2017. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101017.html>> Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

PADRÕES 2014/17BR. **Padrões HFAC (Humane Farm Animal Care) para Galinhas Poedeiras**. Disponível em: <[http://certifiedhumane.org/wp-content/uploads/Std14\\_17BR\\_Poedeiras\\_Layers\\_4L.pdf](http://certifiedhumane.org/wp-content/uploads/Std14_17BR_Poedeiras_Layers_4L.pdf)>. Acesso em 15 nov. 2017.

PEDROSO, A. A.; MORAES, V. M. B. M.; ARIKI, J. Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras de 50 a 66 semanas de idade suplementadas com probiótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.683-686, 2001.

PELICANO, E. R. L., SOUZA, P. A., SOUZA, H. B. A., OBA, A., NORKUS, E. A., KODAWARA, L. M., & LIMA, T. M. A. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, n.547, p.125-134, 2003.

PÉREZ, M., LAURENCIO, M., MILIÁN, G., RONDÓN, A. J., ARTEAGA, F. Evaluation of a probiotic mixture on laying hens feeding in a commercial farm. **Pastos y Forrajes**, V.35, n. 3, p.311-320, (2012).

REIS, J.S.; DIONELLO, N.J.L.; NUNES, A.P.; LOPRES, D.C.N.; GOTUZZO, A.G.; TYSKA, D.U.; RUTZ, F. Morfometria intestinal em codornas de corte alimentadas com treonina digestível. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.4, p.983-990, 2016.

RIBEIRO JUNIOR, Valdir. **Suplementação dietética de probióticos para galinhas poedeiras leves**. 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Animais Domésticos; Nutrição e Alimentação Animal; Pastagens e Forragicultura) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011. Disponível em: <<http://locus.ufv.br/handle/123456789/5695>> acesso em 25 novembro 2019.

ROCHA, A. P.; ABREU, R. D.; COSTA, M. C. M. M.; OLIVEIRA, G. J. C.; ALBINATI, R. C. B.; PAZ, A. S.; QUEIROZ, L. G.; PEDREIRA, T. M. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v.11, n.3, p.793-801, 2010.

SAAVEDRA, T. M.; FIGUEROA, G.A.; MÉNDEZ, C.H.; SANTOYO, L.M. *Bacillus subtilis* como probiótico en avicultura: aspectos relevantes en investigaciones recientes. **Abanico veterinario**, v.7, n.3, p.14-20, 2017.

SACCOMANI, A.P.O. **Qualidade físico-química de ovos de poedeiras criadas em sistema convencional, cage-free e free-range**. 2015. 57p. Dissertação (Mestrado em produção animal sustentável) – Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, 2015.

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

SANTOS, J.R dos. **Probióticos e simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *salmonella enteritidis***. 2013 86 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.

SILVA, J. H. V., FILHO, J. J., SILVA, E. L. Efeito do Alho (*Allium sativum* Linn.), Probiótico e Virginiamicina Antes, Durante e Após o Estresse Induzido pela Muda Forçada em Poedeiras Semipesadas. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, n.6, p.1697-1704, 2003.

- SOBCZAK, Alicja; KOZŁOWSKI, Krzysztof. The effect of a probiotic preparation containing *Bacillus subtilis* ATCC PTA-6737 on egg production and physiological parameters of laying hens. **Annals of Animal Science**, v. 15, n. 3, p. 711-723, 2015.
- SOUZA, C., PEGORINI, C. S., SILVA, L., VILELA, C. G., SANTOS, R. Níveis de probiótico em rações de poedeiras comerciais semi-pesadas. In. Seminário: Sistemas de Produção Agropecuária – Zootecnia. 3., **Anais...** UTFPR - Campus Dois Vizinhos, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228351840> Acesso em: 08 de nov. 2018.
- TANG, S. G. H., SIEO, C. C., RAMASAMY, K., SAAD, W. Z., WONG, H. K., HO, Y. W. Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic. **BMC veterinary research**, v.13, n.1, p.248, 2017.
- TENÓRIO, A. G. **Avaliação de desempenho, morfometria intestinal e qualidade de carne de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com extrato de algas**. 2015 72 f. Dissertação (mestrado) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.
- VASCONCELOS, F. C., BASTOS-LEITE, S. C., GOMES, T. C. L., GOULART, C. D. C., SOUSA, A. M. D., FONTENELE, G. S. P. Ácidos orgânicos, óleos essenciais e simbiótico na dieta de poedeiras semipesadas: desempenho produtivo e análise econômica. **Acta Veterinária Brasileira**, v.10, n.3, p.194-200, 2016.
- VIEIRA, R. Í. M., LIMA, D. K. S., SILVA, T. D., SOUZA, S. M., PESSOA, M. S., ARAÚJO, A. R., ARNHOLD, E, Flávia Oliveira ABRÃO, F. O. Parâmetros histológicos intestinais de frangos de corte suplementados com probiótico fúngico. Construindo saberes, formando pessoas e transformando a produção animal, Zootecnia Brasil., **Anais...** Centro de convenções da PUC, Goiânia GO, 2018.