



Probiótico na ração ou inoculado em ovos embrionados. 1. Desempenho de pintos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis

Nadja Susana Mogyca Leandro^{1,3}, Adson Santa Cruz de Oliveira², Elisabeth Gonzales³, Marcos Barcellos Café¹, José Henrique Stringhini^{1,3}, Maria Auxiliadora Andrade⁴

¹ Departamento de Produção Animal, Escola de Veterinária - UFG, Campus II, Goiânia, Caixa Postal 131.

² Escola de Veterinária - UFG.

³ Pesquisador do CNPq.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária - UFG.

RESUMO - Foram realizados três experimentos para avaliar o efeito de probiótico sobre o desempenho e a saúde intestinal de pintos. No primeiro experimento, foram utilizados 300 ovos embrionados, nos quais foram inoculados água (placebo) ou solução contendo 10 mg de probiótico (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum*, 10⁶ ufc/g). No segundo experimento, avaliou-se a eficiência do fornecimento de probiótico (*Bacillus subtilis*) na ração em pintos desafiados com *Salmonella* Enteritidis no primeiro dia de vida. No terceiro experimento, o probiótico foi inoculado em ovos embrionados e os pintos foram desafiados com *Salmonella* Enteritidis na eclosão. O delineamento foi em bloco casualizado, nos três experimentos. Foram avaliados desempenho, digestibilidade dos nutrientes da ração e a presença de *Salmonella* Enteritidis no trato gastrointestinal das aves. No primeiro experimento, o probiótico proporcionou redução da digestibilidade do extrato etéreo da ração. Aves oriundas de ovos inoculados com probiótico apresentaram pior conversão alimentar. No segundo experimento, o probiótico proporcionou redução cecal da *Salmonella* Enteritidis, a partir da segunda semana de vida. No terceiro experimento, houve interação entre probiótico e desafio, para peso vivo aos 21 dias de idade, sendo que pintos desafiados ao eclodir com *Salmonella* Enteritidis apresentaram melhores resultados nos grupos que receberam probiótico, via ovo, aos 16 dias de incubação. O probiótico também promoveu a eliminação de *Salmonella* Enteritidis no papo e no ceco de pintos, aos 7 e 21 dias de idade. A suplementação de probiótico em embriões de frangos de corte favorece o desempenho das aves e evita a colonização do papo e do ceco de pintos desafiados com *Salmonella* Enteritidis após a eclosão.

Palavras-chave: desempenho, digestibilidade, frangos, lactobacillus, ovo

Probiotic in diet or inoculated in fertilized eggs. 1. Performance of broiler chicks challenged with *Salmonella* Enteritidis

ABSTRACT - Three experiments were carried out to evaluate the effect of probiotic on performance and intestinal health of chicks. It was used in the first experiment 300 fertilized eggs, in which water (placebo) or probiotic solution containing 10 mg of probiotic (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*, 10⁶ ufc/g) were inoculated. In Experiment 2, it was evaluated the efficiency of probiotic (*Bacillus subtilis*) supply in the diet for chicks challenged with *Salmonella* Enteritidis on the first day of age. In the Experiment 3, the probiotic was inoculated in fertilized eggs and the chicks were challenged with *Salmonella* Enteritidis at hatching. A random block design was used in the three experiments. Performance, digestibility of the feeding nutrients, and the presence of *Salmonella* Enteritidis in the digestive organs of the chicks were evaluated. In the first experiment, the probiotic provided a reduction of digestibility of the ether extract of the feeding. Birds from probiotic inoculated eggs showed the worst food conversion. In the Experiment 2, the probiotic provided caecum reduction of *Salmonella* Enteritidis from the second week of life. On the third experiment, there was an interaction among probiotic and challenge for the body weight at 21 days of life, and the chicks challenged to hatch with *Salmonella* Enteritidis showed best results in the groups that received probiotics, through egg, at 16 days of incubation. The probiotic also promoted the elimination of *Salmonella* Enteritidis in the crop and in the caecum of the chicks at 7 and 21 days of age. Supplementation of probiotics in embryos of broilers favors the performance of the birds and avoids colonization in the crop and in the caecum of broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis after hatching.

Key Words: broilers, digestibility, egg, lactobacillus, performance

Introdução

A primeira semana pós-eclosão corresponde a 17% do período total de criação do frango de corte, período em que se observa a maior taxa de crescimento relativo da ave (Gonzales & Saldanha, 2001). O expressivo ganho de peso na fase pré-inicial ocorre principalmente devido ao aumento acentuado de peso do trato gastrointestinal, superior aos demais órgãos (Nir et al., 1996).

Alterações morfofisiológicas são influenciadas por agentes tróficos, que estimulam o processo mitótico e estão relacionados com a ingestão e digestão dos alimentos, bem como com as propriedades químicas dos nutrientes presentes no lúmen intestinal. A maturidade do trato gastrointestinal de pintos de corte pode ser estimulada com suplementação exógena de produtos capazes de induzir o estabelecimento precoce da microbiota intestinal (Guillot, 2000), como probióticos e prebióticos (Maiorka, 2001). O uso de probióticos para controle de infecções intestinais apresentou resultados consistentes, demonstrando sua habilidade em diminuir a colonização intestinal por bactérias do gênero *Salmonella* sp (Berchieri & Barrow, 1998).

Com relação à modulação da microbiota intestinal, Bertechini & Hossain (1993) recomendam que os probióticos sejam fornecidos precocemente às aves, pois as primeiras bactérias a chegarem ao trato gastrointestinal tenderão a colonizá-lo. Lan et al. (2005) relataram que o período imediatamente após a eclosão é crítico para o estabelecimento da comunidade microbiana do trato gastrointestinal, a qual depende, em parte, do tipo de colonização já presente no trato gastrointestinal no momento da eclosão.

Pedroso et al. (2005) demonstraram que pintos de corte, no momento da eclosão, apresentavam uma comunidade de bactérias complexa no trato gastrointestinal. Menten & Pedroso (2005) citaram que o embrião inicia a ingestão do líquido amniótico no 15º dia de incubação, quando ocorrem a ingestão de microrganismos presentes no ovo e também o processo de colonização do trato gastrointestinal das aves.

A colonização precoce do trato gastrointestinal das aves por bactérias não patogênicas favorece a exclusão das bactérias patogênicas (Andreati Filho & Sampaio, 2000). Gonzales (2004) afirmou que a inoculação de probiótico é viável em ovos embrionados, e pode ser utilizada para promover a colonização do trato gastrointestinal das aves o mais cedo possível. Cruz et al. (2003) observaram que a inoculação de probióticos, prebióticos e ácidos orgânicos via ovo, não prejudicou a eclosão de pintos de corte. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do probiótico comercial

inoculado em ovos embrionados de frangos sobre desempenho inicial, digestibilidade dos nutrientes da ração e presença da *Salmonella* Enteritidis no sistema gastrointestinal.

Material e Métodos

Foram realizados três ensaios experimentais, sendo que no primeiro experimento foram utilizados 300 ovos de matrizes da linhagem Cobb-500 com 46 semanas de idade, provenientes do incubatório comercial da região. Os ovos foram transportados no 15º dia de incubação, quando foram distribuídos uniformemente em quatro incubadoras (capacidade para 120 ovos cada) a fim de completar o período de incubação, sendo que esse processo durou aproximadamente 6 horas.

Aos 16 dias de incubação, 150 ovos foram inoculados com 0,3 mL de água destilada (placebo ou controle) e 150 ovos com o mesmo volume de solução contendo 10 mg do probiótico comercial, para atender à concentração mínima de 10^6 ufc/g. O produto era composto por soro de leite em pó (53,5%), tripolifosfato de sódio, aluminossilicato e cepas liofilizadas de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum*, nas concentrações de $1,1 \times 10^8$ ufc/g. A inoculação foi efetuada na cavidade alantoide, utilizando-se uma seringa de 1,0 mL e uma agulha de 13 mm estéreis para cada ovo. Antes de introduzir a agulha e injetar a solução de acordo com os tratamentos, identificou-se a posição do embrião com ovoscópio, de acordo com a metodologia proposta por Cruz et al. (2003).

As incubadoras foram instaladas em salas diferentes de acordo com os fatores estudados (inoculação com água destilada ou inoculação com a solução contendo probiótico), sendo reguladas e monitoradas diariamente para manter a temperatura e a umidade relativa em 37,5°C e 55%, respectivamente, até o final da incubação. Após o nascimento e seleção dos pintos de corte pelo peso corporal, 280 aves (não sexadas) foram distribuídas de acordo com a inoculação realizada em ovo, em baterias de gaiolas, equipadas com comedouros e bebedouros tipo lineares e bandejas metálicas para colheita de excretas. Para evitar contaminação entre as aves do grupo controle e o grupo inoculado com probiótico, foram utilizados dois galpões semelhantes de alvenaria. O delineamento experimental foi em blocos casualizados (controlando o efeito do andar das baterias), 20 repetições com sete aves por parcela, totalizando 40 parcelas. As variáveis estudadas foram: consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e mortalidade (transformada em Arc seno).

A ração utilizada em todos os tratamentos foi farelada e composta por ingredientes vegetais, isenta de antibióticos como promotores de crescimento (Tabela 1).

O ensaio de digestibilidade foi realizado pelo método de colheita total das excretas, durante o período de 6 a 10 dias de idade dos frangos. A ingestão de ração foi controlada e diariamente faziam-se duas coletas de toda a excreta produzida (pela manhã e à tarde), acondicionando-as em sacos plásticos e conservando-as em *freezer*, para análises posteriores. As análises bromatológicas da matéria seca, da proteína bruta, do extrato etéreo e do nitrogênio, foram de acordo com a metodologia proposta por Silva (1990). Foram calculados os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), da proteína bruta (CDPB), do extrato etéreo (CDEE) e o balanço de nitrogênio.

No segundo experimento, foram utilizados 200 pintos de corte, de um dia de idade (100 pintos machos e 100 fêmeas) e de linhagem comercial, adquiridos em incubatório comercial e avaliados para certificação de que eram livres de salmonela. Todas as aves foram submetidas, no primeiro dia de vida, ao desafio de *Salmonella* Enteritidis, resistentes ao ácido nalidíxico, sendo que metade das aves foi alimentada com rações contendo probiótico.

Os pintos foram distribuídos em baterias aquecidas em um galpão experimental e alimentados à vontade. A elaboração da ração basal seguiu a mesma formulação do primeiro experimento (Tabela 1), também isenta de antimicrobianos. As rações experimentais com probiótico

continham 300 ppm (cada kg do produto continha *Bacillus subtilis* 10¹⁰ células viáveis/100 g).

Para o desafio dos pintos, o inóculo foi preparado com amostras de *Salmonella* Enteritidis de origem aviária, resistente ao ácido nalidíxico, e todas as aves foram inoculadas em caldo cérebro coração (BHI) e incubadas a 37°C por 18 horas, sob agitação em banho-maria. Cada pinto recebeu, diretamente no papo, por meio de uma pipeta, 0,1 mL de um inóculo que continha 10⁶ ufc/mL.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com dois fatores estudados (ração com ou sem probióticos), 10 repetições e parcelas constituídas de 10 aves. As variáveis estudadas foram: desempenho dos pintos e comportamento da *Salmonella* Enteritidis no trato intestinal dos pintos desafiados durante a fase de crescimento.

A pesquisa da *Salmonella* Enteritidis foi realizada aos 7, 14 e 21 dias de idade, quando os cecos foram removidos assepticamente e o conteúdo do ceco foi retirado de duas aves por parcela, de acordo com Geórgia Poultry Laboratory (1997).

No terceiro experimento foram utilizados 400 ovos de matrizes Cobb-500, de 50 semanas de idade, provenientes de um incubatório comercial. Os ovos foram pesados e distribuídos uniformemente em três incubadoras, mantidas a 37,8°C e 55% de umidade, durante todo o período de incubação. Aos 16 dias de incubação, os ovos com embriões viáveis foram inoculados de acordo com o primeiro experimento.

Os fatores estudados foram: ovos inoculados com água (placebo) e pintos não submetidos ao desafio com *Salmonella* Enteritidis, ovos inoculados com probiótico e pintos não submetidos ao desafio, ovos inoculados com água (placebo) e pintos submetidos ao desafio com *Salmonella*, ovos inoculados com probiótico e pintos submetidos ao desafio com salmonela.

Os ovos do placebo (com ou sem desafio com salmonela) foram inoculados, na cavidade alantoide, com 0,3 mL de água destilada estéril. Já os com probiótico foram inoculados com solução contendo 10 mg do Probiótico, composto por *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* e *Enterococcus faecium* (1,1x10⁸ ufc/g) para atender a dose de 10⁶ ufc /g em cada ovo.

Após a eclosão de 80% dos ovos, os pintos viáveis foram retirados das incubadoras e foram inoculados diretamente no papo, por meio de uma pipeta de um 1,0 mL com 0,1 mL de solução aquosa - conforme os tratamentos, sendo que nos tratamentos sem desafio as aves receberam água e, nos desafiados, receberam uma solução com 1,36 x 10⁶ ufc de *Salmonella* Enteritidis.

Tabela 1 - Composição da ração inicial para pintos de até 10 dias de idade

Composição em ingredientes	(%)
Milho	58,01
Farelo de soja	35,70
Óleo de soja	2,23
Fosfato bicálcico	1,80
Calcário calcítico	1,10
Premix mineral e vitamínico ¹	0,05
Sal	0,45
DL-metionina (99%)	0,22
L-lisina HCl (78%)	0,44
Composição nutricional	
Proteína bruta (%)	21,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.000
Cálcio (%)	1,000
Fósforo disponível (%)	0,450
Metionina total (%)	0,548
Lisina total (%)	1,200
Sódio (%)	0,224

¹ Suplemento mineral vitamínico, níveis por kg de produto adicionado na ração: vit. A - 2.650.000 UI; vit. D3 - 500.000 UI; vit. E - 400 mg; vit. K3 - 400 mg; vit. B12 - 3.500 mg; vit. B2 - 2.000 mg; piridoxina - 400 mg; biotina - 20 mg; ácido fólico - 200 mg; ácido pantotênico - 2.200 mg; ácido nicotínico - 8.500 mg; Colina - 150 mg; I - 3,35 mg; Fe - 57,72 mg; Cu - 12,30 mg; Zn - 141,48 mg; Mn - 173,00 mg; K - 7,88 g; S - 0,72 g; Na - 1,80 g; Mg - 0,90 g.

Os pintos foram distribuídos em baterias aquecidas em galpões distintos, conforme os tratamentos desafiados ou não desafiados com a salmonela, em salas diferentes. O delineamento foi em blocos casualizado em esquema fatorial 2×2 (duas inoculações nos ovos - placebo e probiótico; duas inoculações nos pintos - placebo e salmonela) e 10 repetições de 10 aves cada.

As aves receberam água e ração *ad libitum* por todo período experimental. A ração à base de milho e de farelo de soja foi formulada, sem antimicrobianos e agentes anticoccidianos, com os níveis nutricionais e composição de alimentos (Tabela 1).

Para as avaliações microbiológicas foram coletados fragmentos de papo e ceco de 20% das aves em cada período estudado (7 e 21 dias de idade). Realizou-se a pesquisa de *Salmonella* Enteritidis de acordo com a metodologia proposta pelo Geórgia Poultry Laboratory (1997), sendo a salmonela encontrada, considerada como a mesma inoculada.

Os resultados de desempenho e de digestibilidade dos nutrientes foram submetidos à análise de variância através do proc GLM do SAS[®] (1998) e as médias, quando necessário, comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

No primeiro experimento, no qual as aves não foram desafiadas com salmonela, a inoculação do probiótico via ovo, aos 16 dias, não influenciou significativamente a digestibilidade da matéria seca, da proteína bruta, nem o balanço de nitrogênio ($P > 0,05$) (Tabela 2). Já o coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo foi significativamente prejudicado pelo probiótico inoculado ($P < 0,05$), o qual foi menor em três pontos percentuais em relação ao grupo controle. A menor digestibilidade do extrato etéreo dos pintos que receberam o probiótico, em ovo, sugere que as bactérias do probiótico colonizaram o trato gastrointestinal das aves e competiram com a ave por nutrientes energéticos. Mohan et al. (1996) e Jin et al. (1998) relataram que bactérias

probióticas são capazes de assimilar lipídeos e competem com o hospedeiro por esse nutriente.

Lan et al. (2005) sugeriram que, embora a microbiota intestinal possa ter efeito benéfico sobre a digestão de certos componentes da dieta, o efeito pode ser negativo sobre a utilização da energia metabolizável pelo hospedeiro. Assim, pintos que apresentam uma microbiota ativa no trato gastrointestinal aparentemente têm aumento no requerimento de energia para a manutenção.

A microbiota também pode ser benéfica ao hospedeiro pela produção de energia na forma de ácidos graxos de cadeia curta, proveniente da fermentação de oligo ou polissacarídeos não hidrolisados pela ave, e prover energia extra para aves e melhorar a conversão alimentar. No entanto, isso ocorre mais particularmente quando as aves são alimentadas com dietas ricas em fibra (Muramatsu et al., 1991). Quando as dietas são compostas por ingredientes que são facilmente digestíveis pela ave, a eficiência da utilização da energia pode ser reduzida com a microbiota no trato gastrointestinal, devido à competição da microbiota com o hospedeiro pelos substratos (Muramatsu et al., 1994).

Os resultados observados neste trabalho com relação aos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e ao balanço de nitrogênio estão de acordo com os obtidos por Leandro et al. (2001), que não observaram diferenças no coeficiente de digestibilidade da proteína bruta e da matéria seca entre frangos alimentados com ração contendo probiótico ou não, durante a fase inicial de criação. No entanto, anteriormente, Fuller (1989) afirmou que o probiótico promove um equilíbrio na microbiota do trato gastrointestinal, favorecendo a saúde intestinal das aves e, desta maneira, melhora a absorção dos nutrientes da dieta, o que reflete em maiores coeficientes de digestibilidade. Do mesmo modo, Tournut (1998) apresentou dados em que probiótico, administrado por meio da dieta elevou os valores da energia metabolizável da ração e melhorou a digestibilidade da gordura em frangos de corte.

De acordo com Gonzales. (2004), pinto de corte alcança bom desempenho quando há equilíbrio da microbiota intestinal, o qual favorece a saúde da ave e promove a maturidade do gastrointestinal, reduzindo as limitações nos processos de digestão dos alimentos e na absorção dos nutrientes da ração. No entanto, Lan et al. (2005) relatam que para que a microbiota seja estabilizada no intestino delgado e no ceco são necessárias aproximadamente 2 e de 6 a 7 semanas, respectivamente. Assim, o período estudado de 10 dias pode não ter sido suficiente para que ocorresse a estabilização da microbiota intestinal e, portanto, para observar os efeitos benéficos do probiótico sobre a digestibilidade de nutrientes da ração. As diferenças nos

Tabela 2 - Digestibilidade dos nutrientes da ração em pintos de 6 a 10 dias de idade provenientes de ovos inoculados com placebo ou probiótico (experimento 1)

Coeficiente de digestibilidade (%)	Inoculação		
	Placebo	Probiótico ¹	CV(%)
Matéria seca	74,20	73,28	2,74
Proteína bruta	67,75	67,14	4,05
Extrato etéreo	94,17a	91,16b	3,44
Balanço de nitrogênio (g)	1,50	1,70	23,98

¹1,1 x 10⁶ ufc de *L. plantarum*, *L. casei*, *E. faecium* por ovo. Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste F.

resultados de pesquisa podem estar relacionadas aos fatores variáveis, como idade do hospedeiro, contaminação do ambiente e dietas utilizadas.

As análises dos dados da fase pré-inicial de frangos mostraram que a inoculação do probiótico não influenciou o peso ao 1º dia de vida e nem o ganho de peso no período de 1 a 10 dias de idade ($P>0,05$) (Tabela 3). Esses resultados indicam que a inoculação via ovo, de $1,1 \times 10^6$ do probiótico estudado (composto por *L. plantarum*, *L. casei* e *S. faecium*), aos 16 dias de incubação, não prejudicou o desenvolvimento embrionário e o desempenho inicial de pintos de corte. No entanto, em estudo utilizando uma cultura indefinida de microrganismos como probiótico, Cruz et al. (2003) verificaram que o peso do neonato foi menor quando os embriões foram suplementação com probiótico e consideraram o produto impróprio para a inoculação em ovos embrionados.

O probiótico não prejudicou o desenvolvimento embrionário, no entanto, sua aplicação também não proporcionou melhora no desempenho dos pintos de corte na fase pré-inicial ($P>0,05$), assim como não reduziu a mortalidade das aves durante esse período ($P>0,05$). A conversão alimentar do grupo inoculado com probiótico foi pior quando comparada à das aves controle ($P<0,05$), o que pode estar relacionado ao menor coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo (Tabela 2). Ito (2004) citou que, em condições normais, sem desafios, as bactérias probióticas podem causar uma disbacteriose, ou seja, desequilíbrio da microbiota no trato gastrointestinal, e assim prejudicar o desempenho das aves não desafiadas e suplementadas com probiótico.

Os resultados de ganho de peso estão de acordo com vários estudos que utilizaram probiótico na ração como promotor de crescimento em frango de corte e mostraram que os probióticos não proporcionaram vantagens para o desempenho (Lima et al., 2003; Loddi, 2003). Traldi (2005) encontrou efeito negativo com o uso de probiótico sobre o

ganho de peso e conversão alimentar em frangos até aos 21 dias de idade e sugeriu que houve desequilíbrio da microbiota intestinal com a suplementação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus coagulans* em quantidade maiores que encontrada no trato gastrointestinal de aves. No entanto, Brito et al. (2005), em estudo conduzido durante o período total de criação, mostraram que o probiótico favoreceu o ganho de peso e reduziu a mortalidade das aves somente após a fase inicial, e concluíram que a população de bactérias benéficas necessitou de tempo para se estabelecer. Appelt et al. (2010) verificaram melhor conversão alimentar de frangos de corte no período inicial (1-21 dia) quando alimentados com probiótico na ração, embora para a fase pré-inicial (1-7 dias de idade) não houve efeito do probiótico sobre o desempenho das aves.

As aves neste estudo provavelmente foram submetidas a baixo desafio sanitário, já que nasceram em pequenas incubadoras em laboratório e foram criadas em baterias localizadas em galpões experimentais, com reduzido número de aves. De acordo com Loddi (2003), a ação das bactérias probióticas favorece o desempenho das aves quando elas estão em condições de infortúnios, como o desafio sanitário que proporciona o desequilíbrio na sua microbiota natural.

No segundo experimento, no qual todas as aves foram desafiadas com salmonela ao primeiro dia de vida e receberam rações contendo probióticos durante a fase inicial, os resultados de desempenho até 21 dias de idade não foram diferentes entre os dos pintos de corte alimentados com rações contendo ou não probiótico ($P>0,05$). Dados contrários foram observados em estudo por Tornout (1998), no qual aves desafiadas com cepa de *Escherichia coli* hemolítica e alimentadas com dietas contendo probiótico apresentaram melhor desempenho.

Com relação à pesquisa de *Salmonella* Enteritidis no trato gastrointestinal de pintos de corte, verifica-se que todos os grupos desafiados com *Salmonella* Enteritidis que não receberam probiótico mostram a presença da *Salmonella* Enteritidis em todas as idades estudadas (7-14-21 dias). No entanto, nos grupos desafiados que receberam probiótico, houve variação durante o período estudado, já que aos 7 dias de vida foi detectada a presença em todas as parcelas; em quatro parcelas aos 14 e em 3 parcelas aos 21 dias de idade, sugerindo discreta redução da bactéria inoculada, nos grupos que receberam ração contendo probiótico. Assim, os resultados indicam que o período experimental de até 21 dias de idade talvez não tenha sido suficiente para ação do probiótico no trato gastrointestinal de frango de corte. Rocha (2001) verificou que pintos de 1 dia infectados com *Salmonella* spp. não apresentaram no final do período de criação o agente bacteriano.

Tabela 3 - Desempenho de pintos (1 a 10 dias de idade) submetidos à inoculação com placebo ou probiótico aos 16 dias de incubação (experimento 1)

	Inoculação		
	Placebo	Probiótico	CV (%)
Peso inicial (g)	48,09	47,82	1,32
Ganho de peso (g)	215,28	214,63	11,32
Consumo de ração (g)	266,95	272,59	5,71
Conversão alimentar	1,24b	1,27a	2,50
Mortalidade transformada	0,25	0,26	32,76

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste F.

Os resultados de desempenho do terceiro experimento (Tabela 4) mostram que não houve interação significativa entre probiótico inoculado em ovo \times desafio com salmonela pós-eclosão ($P>0,05$) para ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade dos pintos de corte até 21 dias de idade. As aves desafiadas com salmonela apresentaram pior desempenho ($P<0,05$). Embora a dose inoculada de *Salmonella* Enteritidis ($1,36 \times 10^6$ ufc) não tenha promovido diferença na mortalidade entre aves infectadas ou não ($P>0,005$), os piores resultados para ganho de peso e conversão alimentar sugerem que houve uma infecção capaz de prejudicar o desempenho das aves infectadas por *Salmonella* Enteritidis.

O probiótico na ração não influenciou ($P>0,05$) o desempenho e a mortalidade de frangos de corte desafiados ou não por *Salmonella* Enteritidis. No entanto, Nisbet et al. (1998) verificaram redução de 75 para 7% da mortalidade entre os 10 e 12 dias de idade em pintos desafiados com *Salmonella gallinarum*, quando submetidos a uma cultura de exclusão competitiva.

Com respeito ao peso vivo, aos 21 dias de idade houve interação ($P<0,007$) entre os tratamentos (probiótico \times desafio). Os pintos desafiados e provenientes de ovos inoculados com probiótico apresentaram maior peso vivo quando comparados com aqueles desafiados com salmonela que não receberam probiótico via ovo, mostrando efeito positivo do probiótico administrado precocemente em embriões, sobre desempenho quando os pintos foram submetidos a desafios ainda no incubatório.

Os resultados do ensaio microbiológico, para pesquisa de *Salmonella* Enteritidis mostram que houve diferença entre os grupos desafiados ou não na identificação de salmonela, sendo que pintos não desafiados foram negativos para a presença de salmonela, demonstrando que não houve contaminação experimental. A presença da

salmonela, aos 7 e 21 dias de idade, foi identificada somente nos pintos desafiados e não inoculados com o probiótico (papo e ceco). Pintos desafiados com *Salmonella* Enteritidis, que receberam probiótico, não apresentaram a salmonela. Esses resultados sugerem que as bactérias probióticas na dose de 10^6 ufc/g por ovo evitaram a colonização do trato gastrointestinal das aves por *Salmonella* Enteritidis, inoculada via papo em $1,36$ ufc/ave. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Ziprin et al. (1993) e Ziprin & Deloache (1993), que constataram redução na colonização intestinal por *Salmonella* sp quando administrado cultura cecal em pinto de corte. Fukata et al. (1999), utilizando uma mistura de microbiota cecal e frutooligossacarídeo em pintos de corte desafiados com 1, 7 e 14 dias de idade, observaram que os tratamentos promoveram redução na quantidade da *Salmonella* Enteritidis no ceco das aves.

Berchieri & Barrow (1998), ao desafiarem um grupo de pintos com *Salmonella Typhimurium*, após terem sido inoculados com cepas de baixa resistência, verificaram que esse grupo foi resistente à doença, mostrando que realmente as cepas de baixa resistência haviam colonizado anteriormente o trato gastrointestinal das aves. 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.

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

Tabela 4 - Desempenho de pintos (1 a 21 dias de idade) oriundos de ovos inoculados com água (placebo) ou probiótico e desafiados com *Salmonella* Enteritidis após a eclosão (experimento 3)

Inóculo no ovo	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (g/g)	Mortalidade (%) ¹
Placebo	669,93	964,10	1,362	0,123
Probiótico	684,58	954,41	1,361	0,137
Desafio				
Água	717,63a	980,47	1,291b	0,128
Salmonela	633,89b	938,13	1,443 ^a	0,132
CV (%)	4,45	10,51	9,6	29,81
			Peso final (g)	
Inóculo no ovo		Água	Salmonela	
Placebo		765Aa	655Bb	
Probiótico		755Aa	699Ba	
CV(%)	4,19			

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha e letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem ($P<0,05$) pelo teste Tukey.

¹Mortalidade transformada.

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.

Assim, a inoculação com probióticos em ovos embrionados de frangos de corte é uma técnica que apresenta resultados positivos, mas necessita de desenvolvimento no sentido de sua aplicação comercial. Esse desenvolvimento se justifica, pois os resultados indicaram ser uma alternativa importante para o controle de salmonela na produção de frango de corte.

Conclusões

A suplementação de probiótico em embriões de frangos de corte não melhora o desempenho posterior dos pintinhos nem a digestibilidade dos nutrientes da ração. Em pintos desafiados com *Salmonella* Enteritidis, o probiótico adicionado na ração proporciona redução cecal da salmonela. A inoculação de probiótico no ovo evita a colonização do papo e do ceco de pintos desafiados após a eclosão com *Salmonella* Enteritidis e melhora o peso vivo aos 21 dias de idade.

Agradecimentos

À Perdigão Agropecuária, Unidade de Rio Verde, GO, pela doação de ovos embrionados.

Referências

- ANDREATTI FILHO, R.L.; SAMPAIO, H.M.C. Probióticos e prebióticos. **Avicultura Industrial**, n.1078, p.16-32, 2000.
- APPELT, M.D.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C. et al. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.765-771, 2010.
- BERCCHIERE, A.; BARROW, P.A. O desenvolvimento da microbiota intestinal em pintos de corte: prós e contras. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA. Simpósio Internacional sobre manejo de pintos de corte. 1998, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1998. p.183-190.
- BERTEQUINI, A.G.; HOSSAN, S.M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de conter In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1993. p.1.
- BRITO, A.B.; LEANDRO, N.S.M.; STRINGHINI, J.H. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo promotor de crescimento (Olaquinox) e probiótico (*Bacillus subtilis*). **Acta Scientiarum**, v.27, p.327-332, 2005.
- CRUZ, C.P.; STRINGHINI, J.H.; XAVIER, S.A.G. et al. Aplicação de probiótico em ovos embrionados de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 5, p.12, 2003.
- EDENS, F.W.; PARKHUST, C.R.; CASAS, I.A. et al. Principles of competitive exclusion and in egg administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, v.76, p.179-196, 1997.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals: a review. **Journal Applied Bacteriology**, v.66, p.365-378, 1989.
- FUKATA, T.; SASAI, K.; MIYAMOTO, T. et al. Inhibitory Effects of Competitive Exclusion and Fructooligosaccharide, Singly and in Combination, on *Salmonella* Colonization of Chicks. **Journal of Food Protection**, v.62, p.229-233, 1999.
- GONZALES, E. **Ação pró-nutritiva dos aditivos alimentares**. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, 2004. 48p.
- GEORGIA POULTRY LABORATORY. **Monitoring and defection of salmonella in teh poultry and poultry environment oakwood**. 1997. Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997. 223p.
- GONZALES, E.; SALDANHA, E.S.P.B. Os primeiros dias de vida do frango e a produtividade futura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2001, Goiânia. **Anais...** Goiânia: ASEG/ABZ, 2001. p.1259-1265.
- GUILLOT, J.F. The pros and cons of probiotics - Make probiotics work for poultry. **World Poultry**, v.16, n.7, p.18-21, 2000.
- ITO, N.M.K. Manejo de frangos de corte em clima quente. In: WORKSHOP ELANCO, 2004, Goiânia. **Palestras...** Goiânia: Hotel Samarino, 2004. (CD-R0M)
- JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N. et al. Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. **Animal and Feed Science Technology**, v.70, p.197-209, 1998.
- LAN, Y.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S. et al. The role of commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, v.61, n.1, p.95-104, 2005.
- LEANDRO, N.S.M.; FIRMINO FILHO, G.; STRINGHINI, J.H. et al. Utilização de probióticos em frango de corte com peso baixo na primeira semana de vida. In: **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 3, p.35, 2001.
- LIMA, A.C.F.; PIZAURO JR., J.M.; MACARI, M. et al. Efeito do Uso de Probiótico sobre o Desempenho e Atividade de Enzimas Digestivas de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. et al. O uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, rendimento e qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- LODDI, M.M. **Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos para frangos de corte**. 2003. 52f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências agrária e Veterinária/Unesp, Jaboticabal.
- MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.141-152.
- MENTEN, J.F.M.; PEDROSO, A.A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005. p.41-52.
- MOHAN, B.; KADIRVEL, R.; NATARAJAN, A. et al. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and

- serum cholesterol in broilers. **British Poultry Science**, v.37, p.395-401, 1996.
- MURAMATSU, T.; KODAMA, H.; MORISHITA, T. et al. Effect of intestinal microflora on digestible energy and fibre digestion in chickens fed a high-fibre diet. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, p.1178-1181, 1991.
- MURAMATSU, T.; NAKAJIMA, S.; OKUMURA, J. Modification of energy metabolism by presence of the gut microflora in the chicken. **British Journal of Nutrition**, v.71, p.709-717, 1994.
- NIR, I.; NITSAN, Z.; DUNNINGTON, E.A. et al. Aspects of food intake restriction in young domestic fowl: metabolic and genetic considerations. **World's Poultry Science Journal**, v.52, p.251-266, 1996.
- NISBET, D.J.; TELLEZ, G.I.; LOWRY, V.K. et al. Effect of a commercial competitive exclusion culture (preempt) on mortality and horizontal transmission of *Salmonella gallinarum* in broiler chickens. **Avian Diseases**, v.42, p.651-656, 1998.
- PEDROSO, A.A.; MENTEN, J.F.M.; LAMBAIS, M.R. The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.14, p.232-237, 2005.
- ROCHA, P.T. **Ocorrência de *Salmonellas* spp em granjas de integrações de frangos de corte no Estado de Goiás**. 2001.
- 41f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária/ Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 2.ed. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1990. 208p.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS/STAT. User's guide**. Version 8. Cary: Statistical Analysis Systems Institute, 1998. (CD-ROM).
- TOURNUT, J.R. Probiotics. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.179-199.
- TRALDI, A.B. **Efeito de probiótico no desempenho de frangos de corte e nas características da cama reutilizada**. 2005. 51f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrária e Veterinária/Unesp, Jaboticabal.
- ZIPRIN, R.L.; DELOACHE, J.R. Comparison of probiotics maintained by in vivo passage through laying hens and broilers. **Poultry Science**, v.72, p.628-635, 1993.
- ZIPRIN, R.L.; CORRIER, D.E.; DeLOACH, J.R. Control of established *Salmonella typhimurium* intestinal colonization with in vivo-passaged anaerobes. **Avian Disease**, v.37, p.183-188, 1993.