

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE UM PROBIÓTICO
ASSOCIADO A DIFERENTES NÍVEIS DIETÉTICOS DE PROTEÍNA
BALANCEADA EM FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR *EIMERIA*
*MAXIMA***

**Larissa Pereira Maria
Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Nilva Kazue Sakomura
Coorientador: Me. Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE UM PROBIÓTICO
ASSOCIADO A DIFERENTES NÍVEIS DIETÉTICOS DE PROTEÍNA
BALANCEADA EM FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR *EIMERIA
MAXIMA***

Larissa Pereira Maria

**Orientador: Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura
Coorientador: Me. Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas**

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação Científica) apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal – SP
9º Semestre/2021

M332a Maria, Larissa Pereira

Avaliação do efeito da suplementação de um probiótico associado a diferentes níveis dietéticos de proteína balanceada em frangos de corte desafiados por *eimeria maxima* / Larissa Pereira Maria. -- Jaboticabal, 2021 49 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

Coorientador: Luís Filipe De Freitas

1. Animals nutrition. 2. Broiling chickens. 3. Probiotic supplements. I.

Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

DEPARTAMENTO:

Zootecnia

CERTIFICADO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO : Avaliação do efeito da suplementação de um probiótico associado a diferentes níveis dietéticos de proteína balanceada em frangos de corte desafiados por *Eimeria maxima*

ACADÊMICO: Larissa Pereira Maria

CURSO: Zootecnia

ORIENTADOR (ES): Nilva Kazue Sakomura
Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas

PERÍODO : Semestre 9º Ano 2021

Aprovado com conceito: A x B — C

Este trabalho é recomendado para compor a base de dados CAPELO. Sim Não

Reprovado:

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)	(Assinaturas)
Presidente	Me. Luís Filipe Villas-Bôas de Freitas	
Membro	Me. Ingrid Palloma Teodósio da Nóbrega	
Membro	Me. Bruno Balbino Leme	

Jaboticabal 15 / 07 / 2021

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: / /

Prof. Dr. José Mauricio Barbanti Duarte
Chefe do Departamento de Zootecnia
Matricula n. 422332-9

Oferecimentos

Em primeiro lugar à Deus, que me manteve forte e me iluminou até os dias de hoje.
À minha mãe Ligia, que esteve ao meu lado incansavelmente, dando apoio e amor.
Ao meu Pai Leonardo, que me apoiou, acompanhou e torceu pela minha trajetória.
A minha irmã Louise, que com sua pureza me deu esperança em dias melhores.
Aos meus Avós, que me confortaram nos momentos difíceis e sempre me apoiaram.
E a todos aquele que de algum modo auxiliaram na minha graduação e na realização e conclusão desse trabalho.

A vocês ofereço!

*“Educação não transforma o mundo. Educação muda as
pessoas. Pessoas mudam o mundo.”*

(Paulo Freire)

Agradecimentos

Primeiramente agradeço À Deus pela minha vida, pelas oportunidades, experiências e por nunca me desamparar em todos os momentos e me dar forças para seguir no meu caminho e alcançar meu propósito.

A Universidade Estadual Paulista- Faculdade de ciências agrárias e Veterinária de Jaboticabal (UNESP/FCAV) por toda estrutura e ajuda durante os 5 anos de graduação, e também a todos os funcionários.

Aos meus professores, técnicos e demais, que contribuíram para meu crescimento intelectual, profissional e pessoal.

A minha Orientadora Prof^a Dr^a Nilva Kazue Sakomura, pela oportunidade de estágio e por toda orientação no desenvolvimento do meu trabalho de conclusão de curso.

Ao meu Co-orientador Me. Luís Filipe Villas- Bôas de Freitas, por estar ao meu lado em todas as etapas do trabalho de conclusão de curso, pela paciência e por todo aprendizado, que não mediu esforços do começo ao fim para realização e finalização do mesmo.

A mulher da minha vida, minha mãe, que esteve todos os dias me incentivando, apoiando e acima de tudo me amando, dando atenção, carinho, amor e confiança. Obrigada por ser a melhor mãe para mim e para a Louise, te amo mais que tudo.

Ao meu pai, minha cópia em pessoa, obrigada por nunca ter deixado de medir esforços para realização de minhas conquistas, amo você.

A minha irmãzinha Louise, que chegou para me dar mais forças durante a graduação e nesse trabalho, você é minha vida, meu combustível, te amo mais que tudo.

Aos meus avós, principalmente as minhas avós Maria e Carmem, que moveram sempre o mundo para verem a minha felicidade e meu futuro, amo vocês.

Ao meu Tio Julio e a minha tia Paula, que sempre me deram maior apoio e me incentivaram para lutar pelos meus objetivos e sonhos.

Ao grupo PET Zootecnia e todos os membros que agregaram para minha formação muito aprendizado, companheirismo, paciência, dedicação e esforço. A tutora e amiga, Prof^a Dr^a Karina Paes Bürger que me proporcionou inúmeros desafios ao longo dos 2 anos no grupo PET Zootecnia da FCAV.

Ao Laboratório de Ciências Avícolas - LAVINESP e aos membros deste que me proporcionaram aprender tudo que sei hoje, e pelo auxílio nesse trabalho, em especial ao Luís Filipe, Palloma, Bruno, Guilherme, Raully e Freddy.

A minha Amiga em especial Isabella que não mediu esforços para me ajudar na minha formação, no meu desenvolvimento pessoal, obrigada por estar ao meu lado todos os dias nessa trajetória, pelas inúmeras histórias, risadas, choros e companheirismo, te amo irmã.

As minhas amigas de corpo, alma e graduação Nicole, Silviani, Andrea, Ana Victória e Naiara que estiveram comigo em toda graduação, me ajudando, apoiando, e dando força nos momentos difíceis durante todo esse período.

Aos meus colegas da turma da 017, aqueles que tive o privilégio de trocar conhecimentos, amizade e companheirismo.

Agradeço a todos vocês que de algum modo agregaram para minha formação acadêmica e pessoal, gratidão por ter vocês.

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 COCCIDIOSE.....	13
2.2 PROTEÍNA IDEAL.....	15
2.3. PROBIÓTICOS.....	16
2.3.1. <i>Ação dos probióticos</i>	17
2.3.2. <i>Bacillus amyloquenefaciens</i>	18
2.4. RELAÇÃO PROBIÓTICO E COCCIDIOSE.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.2 ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	21
3.3 INSTALAÇÕES, MANEJO E DIETAS.....	22
3.4 ANÁLISE DE DESEMPENHO	24
3.5 ANÁLISE DE PARÂMETROS IMUNITÁRIOS	24
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24
4. RESULTADOS.....	25
4.1 VARIÁVEIS DE DESEMPENHO DAS AVES	25
5. DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÕES.....	37
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

RESUMO

Objetivou-se determinar as respostas na utilização de proteína balanceada (BP) por frangos de cortes desafiados por *Eimeria maxima*, suplementados ou não com probiótico. Um total de 1.440 pintos de corte, machos, com 14 dias de idade da linhagem Cobb 500, foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em seis tratamentos com seis repetições de 40 aves cada, em fatorial 3x2. Os tratamentos utilizados consistiram em três níveis de proteína balanceada (19,98%, 26,64% e 33,29%) com base na lisina digestível (lis) (1,08% lis; 1,44% lis e 1,80% lis) e com ou sem suplementação de probiótico, em fatorial de 3 x 2. O desafio sanitário foi aplicado no 14º dia de idade das aves, por meio de inoculação de *Eimeria maxima* (7×10^3 oocistos/ml) e os níveis de BP nas dietas foram obtidos por meio da técnica de diluição mantendo-se a relação ideal dos aminoácidos. Foi determinado o desempenho de 14 a 21 dias e 14 a 28 dias de idade. A resposta imune das aves, foram avaliados por meio de amostras de sangue coletadas aos 20 dias para análises de CD4 +, CD8 + e FITC-Dextran. Os dados foram submetidos a ANOVA, utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS. Foi observado diferença ($P < 0,05$) sobre o consumo de ração e na conversão alimentar para níveis de proteína balanceada na dieta da fase de 14 a 21 dias. Em relação ao uso de probiótico não houve efeito significativo, pois ($P > 0,05$) para as variáveis analisadas, exceto no ganho de peso que ($P = 0,051$). Não houve interação entre os fatores para nenhuma das variáveis de desempenho avaliadas. Houve efeito quadrático para níveis de proteína balanceada ($P < 0,05$) sobre o consumo de ração, peso vivo e ganho de peso para a fase de 14 a 28 dias. O probiótico na fase de 14 a 28 dias não teve efeito significativo em nenhuma variável de desempenho. Foi observado efeito linear para níveis de proteína balanceada, ($P < 0,05$), para resposta do FITC-Dextran (permeabilidade intestinal). O probiótico e os níveis de PB não influenciaram nas variáveis imunitárias CD4+ e CD8+. Conclui-se que maiores níveis de proteína balanceada na dieta de frangos de corte têm demonstra resposta quadrática sobre as variáveis de desempenho e influência na permeabilidade intestinal. E o probiótico não se mostrou satisfatório durante o desafio sanitário por coccidiose associado a níveis de proteína.

Palavras-chave: coccidiose, imunidade, desafio sanitário, desempenho.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the responses in the use of balanced protein (BP) by broilers challenged by *Eimeria maxima*, supplemented with or without a probiotic. A total of 1440 14-day-old male broiler chicks Cobb 500 were distributed in a completely randomized design in six treatments with six replicates of 40 birds each, in a 3x2 factorial. The treatments used consisted of three levels of balanced protein (19.98%, 26.64% and 33.29%) based on digestible lysine (lys) (1.08% lys; 1.44% lys and 1.80 % lis) and with or without probiotic supplementation, factorial of 3 x 2. The sanitary challenge was applied on the 14th day of age of the birds, through inoculation of *Eimeria maxima* (7x10³ oocysts/ml) and the BP levels were obtained through the dilution technique, maintaining the ideal ratio of amino acids. Performance from 14 to 21 days and 14 to 28 days of age was determined. The immune responses of the birds were evaluated using blood samples collected at 20 days for CD4 +, CD8 + and FITC-Dextran analyses. Data were submitted to ANOVA, using the GLM procedure of the SAS statistical program. There was a difference ($P<0.05$) on feed intake and feed conversion for balanced protein levels in the diet from the 14 to 21 day phase. Regarding the use of probiotics, there was no significant effect, as ($P>0.05$) for the analyzed variables, except for weight gain which ($P=0.051$). There was no interaction between the factors for any of the performance variables evaluated. There was a quadratic effect for balanced protein levels ($P<0.05$) on feed intake, live weight and weight gain for the 14 to 28 day phase. The probiotic in the 14 to 28 day phase had no significant effect on any performance variable. A linear effect was seen for balanced protein levels since ($P<0.05$), in relation to FITC-Dextran (intestinal permeability). Probiotic and CP levels did not influence the CD4+ and CD8+ immune variables. It is concluded that higher levels of balanced protein in the diet of broiler chickens have shown a quadratic response on performance variables and influence on intestinal permeability. And the probiotic was not satisfactory during the health challenge for coccidiosis associated with protein levels.

Keywords: coccidiosis, immunity, health challenge, performance.

1. INTRODUÇÃO

O setor avícola comumente sofre com desafios sanitários, responsáveis pela redução da produtividade das aves e dos lucros do setor. A doença coccidiose é um exemplo de desafio recorrente em frangos de corte, causada pelo agente etiológico protozoário do gênero *Eimeria spp.* É considerada uma das principais doenças do ramo, responsável por ocasionar quadros de diarreia, perda de peso, elevada conversão alimentar, e, em alguns casos mais graves, alta taxa de mortalidade (Yin et al., 2011).

O desencadeamento de diarreia e possíveis hemorragias no trato intestinal modifica as suas funções causando danos ao tecido, como, redução da altura das vilosidades, aumento do turnover epitelial, aumento do espaçamento das junções oclusivas, além de aumentar a secreção de muco como forma de proteção, o que leva a redução da digestão e absorção dos nutrientes (Ouro fino, 2016). Dessa forma há maior disponibilidade de substrato para o desenvolvimento de bactérias, o que pode gerar disbiose no trato, aumentando o número de bactérias patogênicas e predispondo a enterite necrótica (Apajalahti e Vienola, 2016).

Outro fator predisponente a disbiose no trato gastrointestinal, são os níveis e fontes de proteína utilizados na dieta das aves, de tal forma que os frangos de corte requerem dietas com maiores concentrações de proteína digestível e energia para o seu desenvolvimento (Qaisrani et al., 2015). O desempenho dos frangos de corte possui correlação positiva com a digestibilidade da proteína ileal, de forma que o fornecimento de ingredientes com alto teor de proteína e baixa digestibilidade podem ser responsáveis por ocasionar redução no ganho de peso das aves e aumento da população bacteriana patogênica (Cowieson e Roos, 2014).

Tal redução no desempenho é resultante dos efeitos adversos da fermentação proteica no ceco pelos patógenos. A baixa digestibilidade de proteína no intestino delgado, promove passagem de N para no ceco, o que causa aumento da putrefação, ocasionando aumento na concentração de metabólitos nocivos, reduzindo o crescimento do animal (Apajalahti e Vienola, 2016).

Além do mais, quando associado o fornecimento de dietas com altos níveis de proteína e outras doenças entéricas, tais como a coccidiose, há predisposição a enterite necrótica, devido ao aumento da população bacteriana de *Clostridium perfringens* responsável pela produção de toxinas. Entretanto, o fornecimento de dietas com teores reduzidos de proteína balanceada, podem não atender as necessidades proteicas dietéticas das aves ou que as mesmas não expressem o seu máximo potencial genético.

A utilização de aditivos alimentares, tais como probióticos, se fazem uma alternativa para redução desses efeitos negativos. Ao passar do tempo o conceito de probiótico tem ganhado novas visões. E são vistos proveitos de utilizá-lo como aditivo na alimentação animal, porém no ramo da avicultura observa-se uma relutância em sua aplicação. Entretanto, Ramos et al. (2011), ressaltam que os probióticos ganham destaque pelo fato de ser um produto não tóxico e que não causa a resistência de bactérias na produção de frangos de corte.

De acordo com Lee et al. (2010), a saúde e produtividade das aves melhoram com a adição de probióticos na alimentação destes, pois eles agem no sistema imunológico e no equilíbrio da microflora intestinal. Os probióticos manipulam a microbiota através da formação de substâncias antimicrobianas, a competição por sítios de ligação e o estímulo ao sistema imunológico.

Apoiado nesse assunto o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes níveis dietéticos de proteína balanceada associados a suplementação de probiótico em frangos de corte desafiados por *Eimeria maxima* sobre o desempenho e parâmetros imunitários.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Coccidiose

A coccidiose é uma doença parasitária que acomete o trato gastrointestinal das aves, causando enormes prejuízos para toda cadeia avícola e ocasionando impactos negativos no desempenho zootécnico, pois atinge diretamente a produtividade, podendo levar ao aumento de mortalidade, queda no desempenho e nos parâmetros imunitários de frangos de corte, sendo assim na avicultura ela é um fator altamente relevante para a produção (TOLEDO et. al., 2011). Na maior parte se manifesta nas aves de forma subclínica, tendo como consequência redução no ganho de peso, retardo no crescimento e aumento na conversão alimentar, e em alguns casos mais severos, pode causar a morte do indivíduo (Pirágine, 2010). A inflamação por *Eimeria* spp. acomete o trato gastrointestinal provocando complicações com a queda de absorção de nutrientes pelas aves, advindo da modificação tecidual do intestino que fora sido lecionado pela sequência de multiplicação do parasita (Mcdougald, 2008). As aves alojam nove espécies diferentes de *Eimeria* spp e estas são responsáveis por causar diferentes níveis de eimerioses. Economicamente as três mais importantes são: *Eimeria tenella*, *Eimeria acervulina* e *Eimeria máxima* (Kheirabadi et al., 2008).

Revolledo e Ferreira (2005) demonstraram que a coccidiose causou danos de US\$ 1,5 bilhão no mundo todo no setor avícola. As perdas pela coccidiose no Brasil

anual excedem a US\$ 30 milhões devido a essa doença (FEDDERN et al., 2016). Trazendo impactos negativos sobre a conversão alimentar das aves, ganho de peso e eficiência alimentar.

A espécie *Eimeria maxima* recebe essa nomenclatura em razão do tamanho de seus oocistos, que são: grandes, ovais, lisos e amarelados (Ito et al., 2004). A *Eimeria maxima* se parasita na região intermediária do intestino delgado, entretanto as infecções críticas são capazes de prolongar-se do começo do duodeno até o íleo. Ocorre espessamento da parede intestinal, por conta da enterite hemorrágica causada pela infestação por *E. máxima* (Kawazoe, 2009). A ave apresenta sintomas como redução do peso, por conta da ausência de apetite, consequência do baixo consumo de ração, influenciada pela *Eimeria*, petéquias (manchas) nas alças e na parede serosa do intestino, jejuno e íleo, e a perda de pigmentação cutânea são vistos. As perdas são observadas de 5 a 8 dias após a infecção, no estágio sexuado do ciclo de evolução do parasita. Posteriormente ocorre o aparecimento de substância alaranjada, provenientes de lesões e descamações da mucosa, isso é avaliado na necropsia e análise de excretas (Ito et al., 2004).

Em frangos de corte, o controle da coccidiose deve abordar além da mortalidade e prevenção de doenças clínicas, também infecções leves e subclínicas, pois lesões intestinais menores podem interferir no desenvolvimento, conversão alimentar, trazendo desvantagens na produção. Além da prática de manejos corretos e eficazes, a doença tem sido controlada boa parte por adicionar anticoccidianos diretamente na alimentação de frangos de corte (Arabkhazaeli et al., 2011).

Diante disso, o manejo dessa doença precisa de grande parte da quimioprofilaxia, portanto ela possui um custo muito alto para a indústria avícola. Há

necessidade urgente para alternativas e estratégias de controle (Giannenas et al., 2003; Applegate et al., 2010; Peek & Landman, 2011; Bozkurt et al., 2012), devido o aparecimento de cepas resistentes a certos medicamentos, levando em conta também com o crescente número de regulamentações e inibições sobre o uso de anticoccidianos na produção de frangos de corte, traz a necessidade de novas alternativas.

2.2 Proteína ideal

Emmert & Baker (1997) define proteína ideal sendo o balanceamento preciso dos aminoácidos, nem em excesso, nem em falta, no intuito de atender as necessidades dos animais mediante aos aminoácidos, afim de se manterem e ganharem o máximo de gordura corporal, ocorrendo portanto redução destes como fonte de energia e moderação da excreção de nitrogênio. Ferket (2002) acredita que apenas 35% do N são guardados retidos no corpo pelos animais, o que colabora para intensificação da poluição ambiental.

O termo utilizado para definir proteína ideal diz respeito a selecionar um aminoácido como referência, e basear as exigências de outros aminoácidos como sendo uma parcela desse aminoácido referência. O aminoácido descrito como referência é a lisina. Segundo Pack (1996), ela é o segundo aminoácido limitante na formulação de rações para frangos de corte a base de milho e farelo de soja, posterior a metionina que é o principal. Isso é explicado por conta que as análises de metionina são mais complexas que a de lisina, sendo essa usada unicamente para a geração de proteína.

Atualmente recomenda-se nas formulações de dietas, reduzir o nível proteico, causando a exclusão da sobra de aminoácidos essenciais e não essenciais. Sendo assim (Rostagno et al., 2003) recomendam que quando possível para evitar deficiências deve-

se aplicar na alimentação aminoácidos industriais tais como metionina, lisina e treonina. Esses estão cada vez mais competitivos no mercado da nutrição animal, pois estão sempre comercialmente disponíveis e seu custo é viável entre os demais aminoácidos.

Referências mediante ao efeito entre os níveis de proteína ideal na dieta e a coccidiose em frangos de corte é relativamente escassa. É visto que os efeitos são imprevisíveis dos níveis de proteína dietética sobre a resistência a infecções. Estudos apontam que quando há acréscimo dos níveis de proteína na alimentação de frangos de corte, ocorre susceptibilidade dos mesmos (Hill & Garren, 1961), porém em pelo menos um ponto foi identificado efeitos de aumento da resistência e vulnerabilidade a níveis de proteína maiores na alimentação de frangos de corte, podendo não depender de outras condições alimentares (Hill et al., 1961).

2.3. Probióticos

No setor avícola surgiu a demanda de novas alternativas para minimizar o uso de antibióticos na alimentação das aves, visto que pode ser encontrado resíduos do mesmo na carne e assim transmiti-lo ao consumidor final, e com o passar do tempo as aves criam resistência das bactérias a este composto (Butolo, 2002; Fukayama et al., 2005).

Em 1965, pela primeira vez usou-se a expressão probiótico, sendo elementos segregados por microrganismos que incitavam o crescimento de outros (Lilly & Still Well, 1965). Porém no decorrer dos anos o conceito que mais se aplica é o de Fuller, no qual denota que os probióticos são microrganismos que quando adicionados aos alimentos afetam de forma benéfica o balanço da microbiota intestinal, auxiliando no equilíbrio intestinal, fornecendo proteção frente a infecções gastrointestinais (Fuller, 1989; Revollo, 2008). Para evitar lesões na mucosa intestinal, analisou-se que quando

os probióticos são fornecidos de maneira contínua estes protegem os vilos e a superfície que absorve em combate a toxinas irritantes que são provocadas por microrganismos patogênicos (Silva & Pinheiro, 2008).

Os primeiros relatos e publicações sobre probióticos na alimentação animal no mundo todo já passa de cinco décadas, comprovando na saúde animal os efeitos desses microrganismos (Silva & Pinheiro, 2008). Alguns trabalhos tem validado que os probióticos fornecem inúmeras melhorias a saúde do hospedeiro, não é encontrado resíduos nos produtos de origem animal sendo assim não há resistência a antimicrobianos (Kołożyn-krajewska & Dolatowski, 2012; Roberfroid, 2000; Vohra et al., 2016). Por isso os fazem ser uma possibilidade de troca dos antimicrobianos como aditivos alimentares (Mountzouris et al., 2009; Mountzouris et al., 2011).

2.3.1. Ação dos probióticos

De modo geral, o mecanismo de ação dos probióticos gera um bloqueio físico que barra outras bactérias de se prenderem no epitélio intestinal, isso está associado à exclusão competitiva e pela competição por sítios de ligação, na qual ocupam estes sítios de ligação ou receptores no epitélio intestinal. Como resultado, ocorre um maior potencial em reprodução das bactérias e metabolização dos nutrientes do que as não ligadas. (Abudabos et al., 2015; Bitterncourt et al., 2011). As bactérias probióticas realizam um efeito biológico conforme elas promovem um ambiente de baixa tensão de oxigênio, atrapalhando o crescimento de bactérias enteropatogênicas, também possibilitam um efeito químico, uma vez que bactérias probióticas geram ácidos orgânicos, como lático e propiônico, conduzindo a uma diminuição do pH do ambiente intestinal, resultando em uma inibição de bactérias patogênicas (Ghadban, 2002).

O emprego de aditivos em alguns probióticos apoiados em *Lactobacillus sp.* (Cao, 2013) na ração de frangos de corte mostrou resultados satisfatórios na redução da amônia e no odor das excretas das aves. Apesar disso, outros autores não notaram efeitos significativos destes aditivos (Ullman et al., 2004).

O sistema de atuação dos probióticos nas aves engloba: ajustar e manter a microbiota do intestino saudável através da exclusão competitiva e antagonica; melhorar a ingestão e digestão dos alimentos pelos animais; alterar o metabolismo de forma a aumentar a produção/ação de enzimas digestiva e diminuir a atividade da enzima bacteriana e amônia; e estímulo do sistema imune, neutralizando enterotoxinas (Jin et al., 1998a). Outras formas de atuação apresentadas por outros autores são: o efeito dos probióticos sobre a translocação de patógenos; e a modulação do sistema imune, através do reconhecimento pelos macrófagos e sua multiplicação (Rodrigo & Gil, 2005; Barbosa et al., 2011).

2.3.2. *Bacillus amyloquenefaciens*

Nos últimos tempos pesquisas permitiram resultados bastante favoráveis na inclusão de probióticos na dieta de frangos de corte. A aplicação de *Bacillus subtilis* (Santoso et al., 1995; Fritts et al., 2000) na alimentação promoveu aumento do ganho de peso e melhoria na conversão alimentar de frangos de corte.

Outro probiótico da família *Bacillus* utilizado na avicultura é o *Bacillus amyloliquefaciens* no qual é uma linhagem eficiente que possui habilidades de gerar enzimas extracelulares, compreende-se a celulase, α -amilases, proteases e metaloproteases, que auxiliam no acréscimo da efetividade da digestão e ingestão dos nutrientes (Lee et al., 2008). Além de que as bacteriocinas que são originadas de *B.*

amyloliquefaciens trazem com elas efeitos antibacterianos para combate a microrganismos patogênicos (Lisboa et al. 2010).

Algumas vantagens desse probiótico, está associado à estabilidade de armazenamento e sob as temperaturas de peletização. Também se observa fácil manuseio pelos profissionais e o mais importante possui boa relação com outros aditivos o que leva a um produto eficiente, seguro e garantido. Propicia uma conexão entre imunidade, microbiota intestinal e nutrição animal, com melhores condições de saúde dos animais, proporcionando aos produtores que estes solucionem os desafios encontrados na produção, desde o baixo desempenho até a segurança alimentar.

Estudos recentes apresentaram que a suplementação de *B.amyloliquefaciens* na dieta de frangos de corte trouxe benefícios a microbiota e morfologia intestinal, em relação a digestibilidade dos nutrientes, trazendo assim resultados melhores tanto na taxa de conversão alimentar quanto o crescimento em frangos (Ahmed et al., 2014 ; Latorre et al. 2015; Li et al. 2015a , b). Esses efeitos positivos indicam que o *B. amyloliquefaciens* pode contribuir positivamente para melhora do estado de saúde das aves e reduzir a emissão de toxinas nocivas das mesmas.

2.4. Relação probiótico e coccidiose

Os probióticos e os coccidiostáticos são aliados na manutenção do desempenho de frangos de corte, atuando em conjunto para obtenção de uma boa saúde das aves nas granjas. Os coccídeos são autolimitados, isso faz com que a infecção por *Eimeria spp* seja diferenciada das infecções bacterianas e virais. Assim as aves podem ser expostas a outras infecções como a clostridiose, por causa dos danos teciduais gerado pelos parasitas do gênero *Eimeria spp*, estabelecendo uma extensa porta de entrada para

patógenos secundários no trato gastrointestinal. Essa contaminação juntamente com outras doenças que acometem o sistema imunológico, podem causar um quadro mais crítico (Gupta, 2009). Outro ponto relevante é a diminuição na absorção de nutrientes específicos e fundamentais, tais como: cálcio, zinco, ácido oleico e glicose (Lillehoj; Lillehoj 2000; Allen; Fetterer, 2002).

O uso de probióticos está ligado à melhoria de inúmeros indicadores de saúde e bem-estar. Em razão disso, essa área tem se mostrado promissora sendo sua utilização na sanidade de animais de produção, em troca às doses subterapêuticas de antibióticos, frequentemente usadas nas dietas de animais criados intensivamente, como suínos e aves (Guerra et al., 2007).

Dessa maneira os probióticos irão agir como uma barreira de proteção mediante a doenças inflamatórias e infecções no trato gastrointestinal das aves. O mais adequado é que o probiótico seja fornecido o mais rápido possível para as aves ou adicionado a dieta, pois desta maneira as bactérias que estão ali presentes colonizem e se multipliquem no trato intestinal de frangos jovens, despertando suas melhorias ao hospedeiro antes dele ser contaminado por algum patógeno (Andreatti Filho; Sampaio, 2000). A aplicação dos mesmos na produção contribui significativamente para melhora dos lotes nas granjas, coincidindo para níveis melhores de desempenho, crescimento, ganho de peso e conversão alimentar. Sendo assim essa relação do probiótico com a coccidiose traz inúmeros benefícios a indústria avícola, sendo fator determinante na produção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O projeto de pesquisa foi realizado no Laboratório de Ciências Avícolas-LAVINESP, situado na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal- FCAV. Todos os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pelo comitê de bioética de uso de animais da Universidade sob número de protocolo 4566/20.

3.2 Animais e delineamento experimental

Foram utilizados 1.440 pintos com 14 dias de idade, machos, da linhagem Cobb 500. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado em seis tratamentos com seis repetições de 40 aves cada, em esquema fatorial 3x2. Os tratamentos utilizados consistiram em três níveis de proteína balanceada (19,98%, 26,64% e 33,29%) com base na lisina digestível (lis) (1,08% lis; 1,44% lis e 1,80% lis) e, aves com ou sem suplementação de probiótico, ou seja, fatorial de 3 (níveis de proteína) x 2 (com e sem probiótico), como é observado na tabela 1, que traz o design do delineamento experimental.

Tabela 1. Design do delineamento experimental

Tratamento	Desafio	Probiótico
T1: 19,98% de PB – (Lis – 1,08%)	+	-
T2: 26,64% de PB – (Lis – 1,44%)	+	-
T3: 33,29% de PB – (Lis – 1,80%)	+	-
T4: 19,98% de PB – (Lis – 1,08%)	+	+
T5: 26,64% de PB – (Lis – 1,44%)	+	+
T6: 33,29% de PB – (Lis – 1,80%)	+	+

3.3 Instalações, manejo e dietas

As aves foram alojadas em galpão convencional para frangos de corte equipados com ventiladores e campânulas para controle de temperatura, com bebedouros tipo nipple e comedouros tubulares. As aves foram vacinadas no incubatório contra doença de Marek e Gumboro, aos 16 dias de idade as aves foram vacinadas contra doença de Newcastle, via água.

As aves foram pesadas individualmente e distribuídas em boxes (1,8 x 1,0m) para garantir peso inicial semelhante entre as unidades experimentais. O programa de luz utilizado foi de 18L:6E (18 horas de luz e seis horas de escuro). Água e ração foram fornecidas *ad libitum* e os manejos foram realizados diariamente seguindo as recomendações do manual da linhagem. Temperatura e umidade foram registradas diariamente e ao final foi considerado as médias de temperatura mínima e máxima e de umidade mínima e máxima para todo o período experimental.

O experimento foi realizado no período de 14 a 28 dias de idade das aves. As rações com diferentes teores de proteína foram obtidas por meio da técnica de diluição, proposta por Fisher & Morris (1970) um método baseado no princípio que diluição proporciona relações aminoacídicas constantes entre os níveis avaliados, gerando resultados mais confiáveis, as rações foram isoenergéticas. A tabela 2 refere-se à composição dos ingredientes e nutricional das dietas para os 14 a 28 dias, no qual foi formulada três dietas. O probiótico utilizado foi fornecido para as aves durante todo o ensaio experimental de forma *on top* em concentração de 1kg/t de ração, sendo o mesmo composto por população de *Bacillus amyloliquefaciens*.

Para a realização do desafio, aos 14 dias de idade, todas as aves foram inoculadas por meio do fornecimento de 1ml/ave de *Eimeria maxima* (7×10^3 oocistos/ml).

Tabela 2. Composição das dietas fornecidas de 14 a 28 dias (% como base)

Ingredientes (%)	19,98% PB	26,64% PB	33,29% PB
Milho	17,35	23,13	28,92
Farelo de soja, (45%PC)	26,29	35,06	43,82
Gluten de milho (60%)	9,90	13,20	16,50
Óleo de soja	5,958	5,761	5,564
Fosfato bicálcico	1,894	1,76	1,625
Calcário	0,835	0,859	0,883
Sal	0,426	0,391	0,357
Bicarbonato de sódio	0,116	0,154	0,193
BioLys (54,6%)	0,351	0,468	0,585
DL – Metionina (99%)	0,166	0,221	0,276
Suplemento Vitamínico	0,100	0,100	0,100
Suplemento Mineral	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina 60%	0,070	0,070	0,070
Carbonato de potássio	0,687	0,343	0,000
Amido de milho	22,33	11,16	0,000
Inerte ¹	2,000	1,000	0,000
Celite®	1,000	1,000	1,000
Casca de arroz	4,419	2,210	0,000
Açúcar	6,000	3,000	0,000
Composição nutricional			
Energia metabolizável, Kcal/kg	3.120	3.120	3.120
Proteína bruta, %	19,98 (21,17)	26,64 (28,30)	33,29 (34,80)
Met digestível, %	0,49 (0,47)	0,65 (0,65)	0,81 (0,80)
Met + Cis digestível, %	0,80 (0,80)	1,07 (1,08)	1,33 (1,34)
Lisina digestível, %	1,08 (1,07)	1,44 (1,43)	1,80 (1,80)
Treonina digestível, %	0,72 (0,72)	0,96 (0,94)	1,20 (1,19)
Arginina digestível, %	1,16 (1,17)	1,54 (1,54)	1,93 (1,95)
Cálcio, %	0,85	0,85	0,85
Fósforo disponível, %	0,43	0,43	0,43

¹ O material inerte utilizado foi areia; Probiótico (*Bacillus amyloliquefaciens*) foi fornecido on top (1g/kg) na dieta dos tratamentos correspondentes. Valor analisado: $6,8 \times 10^5$ UFC/kg; 19,98% de PB – $8,0 \times 10^5$ UFC/kg; 26,64% de PB – $9,6 \times 10^5$ UFC/kg; 33,29% de PB – $9,4 \times 10^5$ UFC/kg. Valores analisados por HPLC entre parênteses.

3.4 Análise de Desempenho

As aves e as sobras das rações foram pesadas nos dias 21 e 28 de idade para obtenção do peso corporal, ganho de peso e consumo de ração. A partir desses dados foram calculadas a conversão alimentar, corrigido pela mortalidade.

3.5 Análise de Parâmetros imunitários

Foram avaliados parâmetros de imunidade através dos teores de CD4+, CD8+ e junções oclusivas das mesmas aves aos 20 dias de idade. As análises foram realizadas via sangue, sendo colhido da veia ulnar das aves, as amostras após colhidas foram enviadas para laboratório específico e pelo método de citometria de fluxo, foi avaliado a imunidade celular mediante a um painel de células imunes no sangue das aves, os quais foram os linfócitos CD4+ e CD8+, bem como o estado da ativação dessas células. As junções oclusivas foram avaliadas por meio da técnica de passagem de marcador fluorescente (Dextran-FITC), de acordo com a metodologia de Vicuña et al., (2015). Para este teste, um marcador fluorescente específico foi administrado via oral para as aves. Em 2 horas e 30 minutos, o sangue periférico sem anticoagulante foi coletado e enviado refrigerado ao laboratório.

3.6 Análises estatísticas

Para avaliação dos dados obtidos, foi realizado a análise de homoscedasticidade e normalidade dos erros ao nível de 5% pelos testes Brown e Forsythe e Cramer-von Mises, respectivamente. Cada parcela foi considerada uma unidade experimental, e os dados foram submetidos a ANOVA, utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS. Quando significativos considerou o efeito dos tratamentos e suas

interações a 5% de probabilidade. Para determinar o comportamento das variáveis aos níveis de PB foi utilizado o teste de contraste para regressão linear e quadrática.

4. RESULTADOS

4.1 Variáveis de desempenho das aves

As variáveis de desempenho são apresentadas na tabela 3, peso inicial aos 14 dias de idade, consumo de ração, peso aos 21 dias de idade, ganho de peso e conversão alimentar para o período de 14 a 21 dias de idade.

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de proteína bruta sob desafio sanitário por *Eimeria maxima* no período de 14 a 21 dias de idade.

	Peso inicial 14 dias (kg)	Consumo de ração (kg)	Peso aos 21 dias (kg)	Ganho de peso (kg)	Conversão alimentar (kg)
Níveis PB (%)					
19,98	0,480	0,508	0,746	0,266	1,910
26,64	0,481	0,489	0,743	0,262	1,702
33,29	0,497	0,470	0,780	0,290	1,634
Probiótico					
Com	0,487	0,489	0,745	0,258 b	1,761
Sem	0,485	0,488	0,768	0,286 a	1,736
Valor de P					
ANOVA	0,334	0,002	0,093	0,134	0,016
Linear	² NA	<0,001	² NA	² NA	0,001
Quadrática	NA	0,953	NA	NA	0,234
Probiótico	0,811	0,880	0,112	0,051	0,671
Nv x Pro	0,723	0,913	0,302	0,287	0,598
¹CV (%)	3,870	3,529	5,267	14,985	9,593

Colunas com diferentes letras diferem-se entre si a 5% de significância. ¹Coefficiente de variação; ²Não aplicável.

As aves foram distribuídas aos 14 dias de idade nos respectivos tratamentos com peso vivo semelhante, não havendo diferença estatística entre os pesos iniciais ($P>0,05$). Foi observado diferença ($P<0,05$) sobre o consumo de ração e na conversão alimentar somente para os níveis de proteína balanceada na dieta, observando que com o aumento dos níveis de proteína balanceada houve redução no consumo de ração de forma linear e

melhoria na conversão alimentar das aves. Para ganho de peso e peso aos 21 dias não houve influência dos níveis de proteína balanceada sobre o mesmo. Em relação ao uso de probiótico não houve efeito significativo para as variáveis analisadas, exceto no ganho de peso que ($P=0,051$) tendência. Não foi observado interação entre os fatores para nenhuma das variáveis de desempenho avaliadas.

Na tabela 4 encontram-se as variáveis de desempenho, consumo de ração, peso aos 28 dias de idade, ganho de peso e conversão alimentar para o período de 14 a 28 dias de idade.

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de proteína bruta sob desafio sanitário por *Eimeria máxima* no período de 14 a 28 dias de idade.

	Consumo de ração (kg)	Peso vivo aos 28 dias (kg)	Ganho de peso (kg)	Conversão alimentar (kg)
Níveis PB				
(%)				
19,98	1,131	1,178	0,698	1,315
26,64	1,310	1,357	0,863	1,337
33,29	1,272	1,319	0,830	1,289
Probiótico				
Com	1,257	1,304	0,809	1,316
Sem	1,219	1,266	0,785	1,314
Valor de P				
ANOVA	<.00	<.0001	<.0001	0,234
Linear	<0.0	<0.001	<0.001	NA
Quadrática	<.00	<.0001	<.0001	² NA
Probiótico	0,068	0,067	0,173	0,865
Nv x Pro	0,794	0,798	0,410	0,973
¹ CV (%)	4,685	4,511	6,310	2,784

Colunas com diferentes letras diferem-se entre si a 5% de significância. ¹Coefficiente de variação; ²Não aplicável.

Foi observado efeito quadrático para níveis de proteína balanceada ($P<0,05$) sobre o consumo de ração, peso vivo e ganho de peso para o período estudado. Em relação ao uso do probiótico, não houve efeito significativo do mesmo sobre o desempenho das aves de 14 a 28 dias de idade, ou seja, o desempenho não foi afetado pelo uso do probiótico. Independente dos níveis de proteína balanceada e do uso de

probiótico a conversão alimentar das aves foram iguais no período de 14 a 28 dias de idade. Não foi observado interação ($P>0,05$) entre os fatores para nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados.

4.2. Parâmetros imunitários

Na tabela 5 são apresentados os parâmetros imunitários aos 20 dias de idades avaliados, tais como, contagem de linfócitos CD4+ e CD8+, relação linfócitos CD4+:CD8+ e FITC-Dextran.

Tabela 5. Parâmetros imunitários de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de proteína bruta sob desafio sanitário por *Eimeria maxima* aos 20 dias de idade.

	Contagem de linfócitos CD4+ (Células/ml)	Contagem de linfócitos CD8+ (Células/ml)	Relação linfócitos CD4+:CD8+ (Células/ml)	FITC- dextran (µg/ml)
Níveis PB (%)				
19,98	442,2	1017,7	0,246	0,545
26,64	480,5	936,6	0,536	0,442
33,29	549,9	1011,1	0,667	0,403
Probiótico				
Com	421,3	834,1	0,565	0,468
Sem	561,0	1154,9	0,373	0,458
Valor de P				
ANOVA	0,378	0,741	0,192	0,074
Níveis	0,794	0,953	0,141	0,015
Linear	² NA	NA	NA	0,002
Quadrático	NA	NA	NA	0,323
Probiótico	0,300	0,166	0,222	0,769
Nv x Pro	0,156	0,788	0,562	0,911
¹CV (%)	80,963	65,392	86,725	19,538

Colunas com diferentes letras diferem-se entre si a 5% de significância. ¹Coeficiente de variação, ²não aplicável

A contagem de linfócitos CD4+ e CD8+ e a relação linfócitos CD4+:CD8+ não diferiu entre os tratamentos, pois ($P>0,05$), assim não houve diferença nos parâmetros imunitários das aves. Foi observado um efeito linear para níveis de proteína balanceada pois ($P<0,05$), em relação ao FITC -Dextran. Dessa forma maiores níveis de PB, melhoram no que diz respeito a permeabilidade intestinal. Entretanto o probiótico não

influenciou na variável FITC -Dextran. Tanto o probiótico quanto os níveis de PB não influenciaram na variáveis CD4+ e CD8+.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através da análise dos parâmetros de desempenho das aves no período de 14 a 21 dias, sobre o consumo de ração e conversão alimentar somente para os níveis de proteína balanceada na dieta, o consumo de ração reduziu linearmente em função do aumento dos níveis de PB, de modo que o menor consumo foi observado para o nível de 19,98% de PB, ou seja, esse nível atende as exigências das aves, e assim, a medida que aumentou-se o valor de proteína, a mesma reduzia o consumo, por não necessitar mais do nutriente, uma vez que a concentração da dieta possibilitou maior consumo para atender o 1º nutriente limitante.

Resultados descritos por Sharma et al. (1973) corroboram ao da presente pesquisa, onde em seu estudo foi observado essa diminuição mediante o aumento dos diferentes níveis de proteína ideal na ração das aves. Rocha et al. (2003) utilizaram níveis proteicos crescentes (20, 23 e 26%) nas dietas de frangos de um dia até 21 dias, observaram também que níveis mais altos de PB proporcionaram um menor consumo de ração, e melhora na conversão alimentar dos animais.

Outros estudos confirmam que o aumento de PB nas dietas afeta no consumo da mesma (Costa et al., 2001; Haese, et al., 2012) que obtiveram aumento linear do consumo de ração com a diminuição do nível de proteína na dieta.

Os diferentes níveis de PB não afetaram o ganho de peso aos 21 dias e peso vivo aos 21 dias não houve influência dos níveis de proteína balanceada sobre o mesmo.

Sugere-se que isso aconteceu pois, mesmo com a redução do consumo a medida que aumentou a porcentagem de PB na dieta elas obtiveram o mesmo ganho de peso, isso evidencia que mesmo com um menor consumo de ração (kg) por ave, o consumo de uma dieta mais concentrada em PB possibilitou maior consumo do nutriente limitante, dessa forma foi atendido a exigência do frango para o aminoácido lisina (limitante), levando a melhora na conversão alimentar. Araújo et al. (2004), notaram menor ganho de peso e aumento na conversão alimentar quando houve redução do nível de PB de 22% para 18% em dietas para frangos de corte até 21 dias de idade, ou seja, a redução de PB afetou o ganho de peso. Kamran et al. (2008) observaram uma redução linear no ganho de peso e CA com redução dos níveis de PB (20, 21 e 22%) para a fase de criação de 11 a 26 dias. No presente estudo, não houve diferença no peso e no ganho das aves.

Em relação a conversão alimentar no período de 14 a 21 dias foi estatisticamente significativa. Aleator et al. (2000) observaram diminuição no ganho de peso e piora na conversão alimentar em frangos de corte que receberam dietas com nível mais baixo de PB igual a 15,3%, o que está parcialmente de acordo com os resultados encontrados no período de 14 a 21 dias no presente estudo, onde aves alimentadas com dieta com nível de PB 19,98% obtiveram uma conversão alimentar mais alta, porém para ganho de peso não houve diferença. Observou-se que a dieta suplementada com 33,29% de PB resultou em maior ganho de peso e melhor conversão alimentar entre os níveis utilizados.

No que diz respeito ao consumo de ração no período de 14 a 28 dias, Conforme Namroud et al. (2008), a proteína balanceada abaixo ou até 19% resultou em diminuição

do desempenho e consumo de ração de frangos aos 28 dias de idade. No presente estudo o menor nível utilizado foi de 19,98% de PB, quando este comparado aos níveis superiores de proteína bruta, mostra que as aves do nível inferior de PB obtiveram menor ganho de peso, CA e consumo de ração no período de 14 a 28 dias. Diferente do que aconteceu no período de 14 a 21 dias, onde as aves consumiram menos também, porém ganharam mais peso e houve melhora da conversão alimentar significativamente.

Em relação a variável ganho de peso, esse resultado está de acordo ao encontrado por Sabino et al. (2004), que constataram efeito quadrático no ganho de peso com o aumento dos níveis de PB, atingindo o máximo com 21,12% de PB na ração para frangos de corte machos no período de 22 a 42 dias de idade. No presente estudo houve um efeito quadrático nas variáveis ganho de peso no período de 14 a 28 dias. Efeito semelhante foi observado para a variável CA, entretanto não foi observado diferença estatística. Cheng et al. (1997), observaram resultados distintos do presente estudo, um efeito linear para ganho de peso, onde houve menor ganho de peso das aves que foram alimentadas com dietas com níveis de 16% e 18% de PB, e também a piora na conversão alimentar. Nansen (1989), relataram que houve um bom crescimento, porém, a eficiência alimentar não pode ser atingida quando os frangos foram alimentados com dietas de baixo teor de PB (16 e 18%) complementado com alguns aminoácidos essenciais, arginina, lisina, triptofano e treonina. Nesse caso assumisse que as aves não aproveitaram da melhor forma o alimento fornecido, ou seja não converteram a ração consumida em peso vivo da forma que se esperava. Dessa forma, significa que no período de 14 a 28 dias valores próximos de 26,64% de PB podem ser possivelmente utilizados na alimentação dos animais nesse período estudado para melhora das variáveis de desempenho das aves de corte.

Yaissle (1999) observou que com o aumento da ingestão de proteína balanceada se tem um efeito positivo no peso corporal dos frangos de corte durante o desafio sanitário e a restrição alimentar. No presente experimento obteve-se um efeito quadrático no período de 14 a 28 dias. No nível de 33,29% de PB houve redução no ganho de peso e queda no consumo de ração. Esse fato pode estar associado ao excesso de proteína no organismo das aves, ou seja os animais para excretarem o nitrogênio advindo da proteína, demandaram de um maior gasto de energia, o que pode ter levado a queima de gordura corporal, causando diminuição no ganho de peso. O excesso de proteínas é transformado e eliminado pela ave na forma de ácido úrico, no qual tem alto custo energético para o animal. Dessa maneira, a energia dos sistemas produtivos é desviada para eliminação de nitrogênio (Noblet e Perez, 1993). Inclusive, quando relacionado doenças entéricas com o fornecimento de dietas com níveis altos de proteínas, como a coccidiose, há predisposição a enterite necrótica, devido ao aumento da população de *Clostridium perfringens*. Contudo, o fornecimento de dietas com teores reduzidos de PB, podem não atender as necessidades proteicas dietéticas das aves não permitindo o máximo desempenho genético das mesmas.

De qualquer modo, os níveis de proteína bruta utilizados no estudo nesse período de 14 a 28 dias (26,64% e 33,29%) proporcionou efeitos satisfatórios sobre o peso corporal de aves submetidas a desafio sanitário.

No que diz respeito a conversão alimentar no período de 14 a 28 dias houve redução de forma linear da CA, à medida que ocorreu o aumento do nível de PB, porém não foi estatisticamente significativo. O animal para suprir o aporte de nutrientes requeridos diariamente, diminui ou aumenta o consumo da dieta, até que seja suprido o requisitado. Observa-se que no tratamento em que a dieta aparece com 1,08% de lisina

digestível, as aves estavam consumindo a uma taxa inferior de porcentagem de proteína balanceada também, o que implica que o aumento do consumo foi uma atitude dos animais para atenderem suas exigências nutricionais. Essa circunstância pode ser explicada pelo fato de a lisina ser um dos aminoácidos limitantes na dieta de frangos, isto é, sua diminuição, no caso abaixo do recomendado para um bom desenvolvimento da ave, aumenta os valores de conversão alimentar. Porém a justificativa de melhora na conversão alimentar é respondida pela ave na qual consumiu menos ração porque a mesma estava mais concentrada, atingindo sua exigência aminoacídica, levando ao mesmo ganho de peso em todos os níveis de proteína anterior e assim ocorrendo melhora na conversão alimentar.

Em relação ao efeito do probiótico nos parâmetros de desempenho das aves, esses não tiveram efeito significativo em nenhum período do estudo, apenas no ganho de peso na fase de 14 a 21 dias de idade das aves.

Na fase de 14 a 21 dias, o ganho de peso foi diferente estatisticamente, similar ao encontrado por Loddi et al.(2000a), que descreveu que ao ser incorporado um probiótico na dieta de aves, houve menor ganho de peso no período de 1 a 21 dias. Resultados semelhantes foram verificados por Otutumi et al. (2008), no qual dizem que isso provavelmente ocorreu por não haver a colonização do intestino pela cultura contida no probiótico. No entanto neste trabalho não foi realizada essa análise para verificação da colonização das bactérias a nível intestinal, porém é validado que na dieta fornecida durante a fase experimental houve a concentração de *Bacillus amyloliquefaciens*, de forma adequada do probiótico.

Pelicano, Souza e Souza (2004), executando trabalhos com diferentes tipos de probióticos e prebióticos fornecidos à ração também não observaram diferença

significativa para o consumo de ração e ganho de peso em frangos de corte durante o período de 1 a 21 dias de idade. Semelhante a Lora Graña (2006) observou, no qual não houve diferenças nos parâmetros de desempenho entre os tratamentos compostos de probiótico, para desempenho de frangos de corte machos, de 1 a 42 dias de idade alimentados com rações suplementadas com probiótico à base de *Bacillus subtilis*. Pesquisa realizada por Giannenas et al., (2021), foi evidenciado que a capacidade dos probióticos para maximizar o desempenho das aves e mortalidade em frangos de corte foi mais destacado por multiespécies do que por monoespécies.

Mesmo não havendo efeito significativo do probiótico na conversão alimentar nessa fase de 14 a 21 dias, Rodrigues et al., (2008) verificaram melhora da conversão alimentar no período de (1-21 dias) de idade das aves, quando as aves foram alimentadas com ração com probiótico (*Bacillus subtilis*). Dentre as espécies de *Bacillus*, *B. amyloliquefaciens* revelou atividades antimicrobianas fundamentais, (Lee et al., 2016; Chakraborty et al.; 2018) em seus estudos verificaram que esse composto fornece diversas enzimas extracelulares, como proteases e celulase que melhoram e aumentam a absorção de nutrientes e digestibilidade (Lee e at., 2018). Houve investigações de desempenho por Gharib-Naseri et al., (2020) e constataram que a suplementação de *B. amyloliquefaciens* pode melhorar o ganho de peso, conversão alimentar e microbiota em aves de corte. No presente estudo não foi evidenciado esse resultado.

Silva & Pinheiro (2008) assumem que o a forma de aplicação não influencia no desempenho das aves como o tempo de suplementação, dessa forma, o uso do probiótico deve ser feito primordialmente o quanto antes, para que ocorra colonização do trato gastrointestinal de bactérias benéficas, antes que haja atuação dos patógenos .No

presente estudo a suplementação do probiótico foi realizada desde o primeiro dia das aves, antes do período experimental e da inoculação da *Eimeria máxima* (desafio em si), no entanto não foi observado efeito positivo do mesmo sobre as aves.

No período de 14 a 28 dias não houve efeito significativo do probiótico nos parâmetros de desempenho (consumo de ração, peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar). Dessa forma pode-se afirmar que o efeito do probiótico não se mostrou satisfatório nas respostas no desempenho das aves desafiadas pelo protozoário *Eimeria máxima* associando com níveis de PB, obtendo o mesmo resultado ao tratamento sem probiótico, visto que o ganho de peso não foi diferente ($P>0.05$).

Resultados encontrados de Loddi, Gonzáles e Takita (2000); Reyes et al. (2000) e Estrada et al. (2001), os quais constataram que, o emprego de probióticos sobre os parâmetros produtivos nessa fase não teve efeito, em razão da capacidade de colonização do trato gastrointestinal pelas bactérias dos probióticos ser baixa.

Em relação a conversão alimentar na fase de 14 a 28 dias, o probiótico não teve efeito significativo sobre a mesma. Resultados obtidos por Silva et al., (2011), Pelicano et al., (2004) e Flemming (2005), no qual estudado a ação do fornecimento de probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*), Avilamicina e probiótico mais mananoligossacarídeos e dieta controle, não houve diferença significativa na conversão alimentar entre os tratamentos no período de 1 a 35 dias de idade das aves. Pelo fato da eficácia do probiótico estar associada ao fato de desafio sanitário e outros fatores, ocorre dificuldade em comparar diversos estudos (Boratto, 2004; Loddi et al., 2000), mesmo com a vasta existência de tipos de probióticos, condições experimentais e vias de aplicação citados nos estudos (Boratto, 2004).

Não houve interação entre os níveis de proteína balanceada e probiótico. Esses resultados corroboram com o achado de Gharib-Naseri et al., (2021) que não obtiveram relação entre os níveis de PB e o *Bacillus amyloquenefacens*, com o probiótico usado no presente estudo.

Em relação a avaliação dos parâmetros imunitários mostrou-se que não houve diferença entre eles, a contagem de linfócitos CD4+, CD8+ e a relação linfócitos CD4+:CD8+ não diferiu entre os tratamentos. Porém foi observado um efeito linear para níveis de proteína balanceada pois ($P < 0,05$), em relação ao FITC -Dextran.

No que diz respeito aos níveis de proteína balanceada e a contagem de linfócitos CD4+ e CD8+ não ocorreu efeito significativo, o que é possível que a proteína não interferiu no organismo em combater algum tipo de infecção nas aves.

Em relação a proteína balanceada e o FITC- Dextran há um efeito linear. Dessa forma analisou-se que maiores níveis de PB, melhorou a permeabilidade intestinal das aves, o que demonstra que a utilização de maior nível de proteína balanceada melhora a permeabilidade intestinal das aves frente a uma possível infecção devido ao desafio sanitário pela coccidiose.

A utilização de um menor nível de PB, pode aumentar a permeabilidade intestinal, e dessa forma fornecer acesso a passagem de microrganismos não desejáveis e proporcionar a movimentação de agentes oportunistas no intestino das aves.

Vários fatores podem estar relacionados para permeabilidade intestinal se mostrarem maiores em aves alimentadas com dietas com baixo nível de PB. Apesar de não ter sido avaliado propriamente neste trabalho, é satisfatório o conhecimento no que diz respeito que a suplementação de proteína baixa nas dietas aumenta a gordura abdominal e total da carcaça em frangos de corte (Yalcin et al., 2010; Jilali et al., 2012)

podendo ser capaz, em razão à quantidade de proteína disponível nessas dietas em comparação ao excesso de energia disponível. Foi comprovado que a obesidade intensifica a permeabilidade intestinal (Teixeira et al., 2012), havendo uma assimilação de que o excesso de energia pode corroborar à síndrome do intestino permeável (Ott et al., 2017), porém, não há referências disponíveis em aves. Mediante os achados, fica elucidado que o efeito linear que houve no experimento necessita de outras análises e estudos em conjunto para chegar em uma resposta concreta.

Levando em consideração o uso do probiótico vemos que este não influenciou significativamente nas variáveis imunitárias. Porém observou-se que as aves que não recebem a suplementação de probiótico tiveram uma contagem de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ mais expressiva. O que sugere no presente estudo que o probiótico pode ter agido no organismo das aves, pois houve produção desses linfócitos levam-se crer que houve uma contrapartida do organismo em combater algum tipo de infecção que nesse caso pode ter sido causado pelo protozoário causador da coccidiose, *Eimeria máxima*.

Segundo Ouwehand et al. (1999) a sagacidade de adesão na mucosa intestinal é primordial para incitar o sistema imune, e mediante O'Halloran et al. (1997) encontra-se correlação objetiva entre o acréscimo dos títulos plasmáticos de anticorpos e a habilidade de adesão de bactérias probióticas contra microrganismos. O hospedeiro requer equilibrar a solução para maximizar a destruição do patógeno, minimizando os prejuízos a si próprio (Shaw et al, 2006).

Microorganismos patogênicos influenciam a maturação de células dendríticas que orientam a produção de células T efetoras fundamentais para a prevenção de uma infecção posterior a um patógeno semelhante ou com o mesmo e para regulação de infecções (Rescigno et al., 2009). Todavia não se observa estudos que elucidam esse

mecanismo e o presente estudo não mostrou efeito significativo do probiótico em ação conjunta com o CD4+, CD8+ e o FITC-Dextran.

O estudo de Gharib-Naseri et al., (2020) comprovaram o mesmo resultado do presente estudo, no qual o probiótico em relação ao FITC-dextran não apresentou efeito significativo, assim não houve influência significativa sobre a permeabilidade intestinal.

6. CONCLUSÕES

Conclui-se que a aumento de níveis de proteína balanceada nas dietas promove resposta quadrática no desempenho das aves desafiadas com ou sem probiótico.

Durante a infecção por *Eimeria maxima*, o probiótico não favoreceu o desempenho das aves.

Em relação aos parâmetros imunitários, maiores níveis de proteína balanceada melhoram no que diz respeito a permeabilidade intestinal das aves e a associação do probiótico não resultou em alteração nas variáveis imunitárias.

Dessa maneira mais pesquisas são necessárias para elucidar o mecanismo de ação dos probióticos junto aos níveis de proteína balanceada na ração de frangos de corte e que auxiliem no entendimento da associação benéfica entre níveis de proteína na dieta, probióticos e desafio sanitário.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUDABOS, A. M. et al. Effects of prebiotics and probiotics on the performance and bacterial colonization of broiler chickens. **South African Journal of Animal Science**, 45(4):419-428, 2015.

ALBINO, Luiz Fernando Teixeira et al. Níveis de metionina+ cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 519-525, 1999.

ALETOR, V.A. et al. Lowprotein amino acid-supplemented diets in broiler chickens: effects on performance, carcass characteristics, whole-body composition and efficiencies of nutrient utilisation. **Journal of Science and Food Agriculture**, Easton, v.80, p.547-554, 2000.

ALLEN P. C.; FETTERER R. H. Recent advances in biology of Eimeria species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clin Microb Rev.** v. 15, p. 58-65, 2002.

ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M. Probióticos e prebióticos. **Avic. Ind.**, São Paulo, v. 90, n. 1078, p.1632, 2000.

ANUAL, ABPA **Relatório**. Associação Brasileira de Proteína Animal. 2020.

APAJALAHTI, Juha; VIENOLA, K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. **Animal Feed Science and Technology**. 221. 10.1016/j.anifeedsci.2016.05.004, 2016.

APPLEGATE, T.J.et al. Probiotics and phytogenics for poultry: myth or reality? **Poultry Science**, 19, 194–210, 2010.

ARABKHAZAEI F. et al. Biopathologic Characterization of Three Mixed Poultry Eimeria spp. Isolates. **Iranian Journal of Parasitology** 6(4) 23- 32, 2011.

ARAÚJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M.; ARAÚJO, C.S. et al. Antibiótico e probiótico para frangos de corte no período de 24 a 41 dias de idade. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, p.254. 37, 2000, Viçosa. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000.

ARAÚJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M.; ARAÚJO, C.S.S. Redução do nível protéico da dieta, através da formulação baseada em aminoácidos digestíveis. **Ciência Rural**, v.34, p.1197-1201, 2004.

BARBOSA, F. H. F. et al. Probióticos microrganismos a favor da vida. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 11(1):11–21, 2011.

BITTERN COURT, L. C. et al. Influence of a probiotic on broiler performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(12):2739- 2743, 2011.

BORATTO, Adriano José et al. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia em frangos de corte criados em ambiente de conforto, inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6 p. 1477-1485, 2004.

BOZKURT, M. et al. Effects of dietary supplementation with a herbal extract on the performance of broilers infected with a mixture of *Eimeria* spp. British. **Poultry Science**, 53, 325–332, 2012.

BUTOLO, J. E. **Novos padrões da produção avícola**. Chapecó: ACAV, 2002. 48p, 2002.

CASTRO, A. G. M. Situação atual da coccidiose no Brasil: importância econômica. In: Simpósio Internacional de Coccidiose. Santos. Anais... Santos: FACTA, p. 45-54. 1994.

CAO, G.T. et al. Effects of a probiotic, *Enterococcus faecium*, on growth performance, intestinal morphology, immune response, and caecal microflora in broilerchickens challenged with *Escherichia coli* K88. **Poultry Science**, v. 92, n. 11, p. 2949-2955, 2013.

CAVALCANTI, J.S.; TEIXEIRA, A.S.; OLIVEIRA, A.I.G. et al. Probióticos e farinha de carne e ossos com diversos níveis de contaminação bacteriana para frangos de corte. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, p.50-52. 33. Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: SBZ, 1996.

CHAKRABORTY K, Thilakan B, Raola VK. Previously undescribed antibacterial polyketides from heterotrophic *Bacillus amyloliquefaciens* associated with seaweed *Padina gymnospora*. **Appl Biochem Biotechnol**. 184(2):716– 32, 2018.

CHARLES H. Hill. Et al. Blood Citric Acid Concentration as Affected by Heat and Cold Stress and Adrenocorticotrophic Hormone¹, **Poultry Science**, v. 40, n. 2, p. 422-424, 1961.

CHARLES H. Hill; Gennard Matrone. Studies on Copper and Iron Deficiencies in Growing Chickens, **The Journal of Nutrition**, v. 73, n. 4, p. 425-431, 1961.

CHENG, T.K.; HAMRE, M.L.; COON, C.N. Responses of broilers to dietary protein levels and amino acid supplementation to low protein diets at various environmental temperatures. **Journal of Applied Poultry Research**, Cambridge, v. 6, p.18-33, 1997.

COSTA, F. et al. Níveis dietéticos de proteína bruta para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1498-1505, 2001.

COWIESON, Aaron; ROOS, Franz. Bioefficacy of a mono-component protease in the diets of pigs and poultry: A meta-analysis of effect on ileal amino acid digestibility. **Journal of Applied Animal Nutrition**. 2. 10.1017/jan, 2014.

D. AHMED, A.I. et al. Emergence of bla TEM type extended-spectrum beta-lactamase producing *Salmonella* spp. in the urban area of Bangladesh ISRN Microbiol, p. 715310, 2014.

EMMERT, J.L.; BAKER, D.H. Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. **Journal of Applied Poultry Research**, v.6, p.462-470, 1997.

ESTRADA, A. Administration bifidobacterium bifidum to chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir. **Journal of Applied Poultry research**, v. 10, n. 4, p. 329-334, 2001.

FANCHER, B.I. and L.S. Jensen. Influence of varying dietary protein content while satisfying essential amino acid requirements upon broiler rformance from three to six week of age. **Poultry Science**. p. 113-123, 1989a.

FANCHER, B.I. and L.S. Jensen. Dietary protein level and essential amino acid content: Influence upon female broiler rformance during grmvingperiod. **Poultry Science**. 68:897-908, 1989b.

FARIA FILHO, D.E. et al. Dietas de baixa proteína no desempenho de frangos criados em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.101-106, 2006.

FEDDERN, V.; BACILA, D. M.; CARON, L. Uso racional de anticoccidianos na avicultura e estratégias para minimizar seu uso na produção animal. **Avicultura Industrial**, ano 107, n. 6, p. 16-22, 2016.

FERKET, P.R. et al. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. **Journal of Animal Science**, v.80, p.168-182, 2002.

FLEMMING, J.S. Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte. 111p. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2005.

FRITTS, C.A. et al. Bacillus subtilis C-3102 (Calsporin) Improves Live Performance and Microbiological Status of Broiler Chickens1, **Journal of Applied Poultry Research**, v. 9, n. 2, p. 149-155, 2000.

FUKAYAMA, Ellen Hatsumi et al. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2316-2326, 2005.

FUKAYAMA, E.H. et al. Effect of environmental temperature and feather coverage on the performance of two laying-type pullets lines. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.6, p.1.272-1.280, 2005.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, 66(5):365-378, 1989.

GHADBAN, G. S. Probiotics in broiler production-a review. *Archiv fur Geflugelkunde*, 66(2):49-58, 2002.

GHARIB-NASERI, K. et al. *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 improves performance and gut function in broilers fed different levels of protein and/or under necrotic enteritis challenge, **Animal Nutrition**, v. 7, n. 1, p.185-197, ISSN 2405-6545, 2021.

GHARIB-NASERI, K. et al. Modulações de genes relacionados à integridade intestinal, apoptose e imunidade fundamentam os efeitos benéficos do *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 em frangos alimentados com dietas com diferentes níveis de proteína em um modelo de desafio com enterite necrótica. **Journal Animal Sei Biotechnol** 11, 104, 2020.

GIANNENAS, I. et al. Assessment of dietary supplementation with probiotics on performance, intestinal morphology and microflora of chickens infected with *Eimeria tenella*. **Vet Parasitol**, 2012.

GIANNENAS, I. et al. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, 89, 78–84, 2010.

GUERRA, N.P. et al. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v.134, n.1-2, p.89-107, 2007.

GUPTA, S. K. Diagnosis and control of poultry coccidiosis: an update review article. **Haryana Veterinarian**, v. 48, n. 1, p. 1-10, 2009.

HAESE, Douglas et al. Exigência de lisina digestível e planos de nutrição para frangos de corte machos mantendo as relações metionina + cistina e treonina digestível na proteína ideal. **Ciência Rural**. v. 42, n. 3, pp. 538-544, 2012.

HENRIQUE, P.A.F.; FARIA, D.E.; NETO, R.F. et al. Uso de probióticos, antibióticos e ácidos orgânicos como promotores de crescimento para frangos de corte. In: conferência de ciência e tecnologia avícolas, Campinas. *Anais...* Campinas: APINCO, 1998. p.35, 1998.

ITO, N. et al. Saúde Gastrointestinal, Manejo e Medidas para Controlar as Enfermidades Gastrointestinal In: Produção de frango de corte. Campinas- SP. FACTA, cap. 13, p. 237-248. 2004.

JIN, L.Z. et al. Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. **Animal Feed Science & Technology**, 70, 197–209, 1998a.

JLALI, M., V. Gigaud, S. M'etayer-Coustard, N. Sellier, S. Tesseraud, L. Bihan-Duval, and C. Berri. Modulation of glycogen and breast meat processing ability by nutrition in chickens: effect of crude protein level in 2 chicken genotypes. **Journal Animal Science** 90:447– 455, 2012.

KAMRAN, Z. et al. Effect of Low-Protein Diets Having Constant Energy-to-Protein Ratio on Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens from One to Thirty-Five Days of Age. **Poultry science**. 87. 468-74, 2008.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JUNIOR, A., SILVA, E. N; FÁBIO, E.DI.; SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. **Doenças das aves**. 2^a ed. Campinas-SP: FACTA, p. 837-855, 2009.

KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D.; Dolatowski, Z. J. Probiotic meat products and human nutrition. **Process Biochemistry**, 47(12):1761-1772, 2012.

LATORRE JD. et al. Avaliação de um candidato a microbiano alimentado diretamente com *Bacillus* na viscosidade da digesta, translocação bacteriana, composição da microbiota e mineralização óssea em frangos de corte alimentados com uma dieta à base de centeio, **British Poultry Science**, v. 56: 6, p. 723-732, 2015.

LEE, K. et al. Direct-fed antimicrobials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. **Journal of Poultry Science**, v.47, p.106-114, 2010.

LEE Y. et al. Antimicrobial activity of *Bacillus amyloliquefaciens* EMD17 isolated from Cheonggukjang and potential use as a starter for fermented soy foods. **Food Science Biotechnol.** 25(2):525–32, 2016.

LEE Y. et al. Purificação e caracterização da celulase produzida por *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3 utilizando casca de arroz. **Bioresource Technol.** 99: 378 – 386, 2008.

LI Y. et al. A suplementação de *Bacillus amyloliquefaciens* alivia o estresse imunológico e os danos intestinais em frangos desafiados com lipopolissacarídeo **Animal Feed Science Technol.**, 208, pp. 119 – 131, 2015.

LILLEHOJ, H. S. et al. Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to eimeria. **Poultry Science**, v. 83, n. 1, p. 611-623, 2004.

LILLEHOJ, H. S.; LILLEHOJ, E. P. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. **Avian Dis.** v. 44, p. 408-425, 2000.

LILLY, D. M.; Stillwell, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Poultry Science**, 147(3659):747-748, 1965.

LISBOA M.P. et al. Caracterização de uma substância semelhante à bacteriocina produzida por *Bacillus amyloliquefaciens* isolado da Mata Atlântica brasileira. **Int Microbiol.** 9: 111 – 118, 2010.

LODDI, M.M.; SATO, R.N.; ARIKI, J. et al. Ação isolada ou combinada de antibiótico e probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos de corte. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 37, 2000, Viçosa. *Anais ...Viçosa*: SBZ, MG, 2000b.

LODDI, M. M.; GONZÁLES, E.; TAKITA, T. S. Uso de prebiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade da carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

LORA GRAÑA, A. Uso de probiótico em rações de frangos de corte. 31p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

MCDUGALD, L. R.; FITZ-COY, S. H. Coccidiosis. *Diseases Of Poultr.* **Blackwell Publishing**, p. 1068 – 1085, 2008.

MOREIRA, J. et al. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 38, 2002, Recife. *Anais...* Recife: SBZ, p.38, 2002.

MORRIS TR. et al. Effects of protein concentration on responses to dietary by chicks. **British Poultry Science** 1987; 28: 185-195, 1987.

MOUNTZOURIS, K. C. et al. Assessment of a phytogenic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. **Animal Feed Science and Technology**, 168(3–4):223- 231, 2011.

MOUNTZOURIS, K. C. et al. Effects of a multispecies probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella enteritidis*. **British Poultry Science**, 50(4):467-478, 2009.

NAMROUD, N.F.; SHIVAZAD, M.; ZAGHARI, M. Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta characteristics of broiler chicks. **Poultry Science**, London, v.87, p.2250-2258, 2008.

NOBLET, J.; PEREZ, J.M. Prediction of digestibility of nutrients and energy values of pig diets from chemical analysis. **Journal Animal Science**. v.71. p.3389-3398. 1993.

O'HALLORAN, S. et al. Adhesion of potential probiotic bacteria to human epithelial cell lines. PBS 35. Functional foods: designer foods for the future. Ireland: Cork. 1997.

OTT, B., T. et al. Effect of caloric restriction on gut permeability, inflammation markers, and fecal microbiota in obese women. **Science**. Rep. 7:11955, 2017.

OTUTUMI, L. K. et al. Utilização de probiótico em rações com diferentes níveis de proteína sobre o comprimento e a morfometria do intestino delgado de codornas de corte. *Acta Scientiarum*. **Animal Science**, v.30, n. 3, p.283-289, 2008.

OURO, fino saúde animal. **A importância da qualidade intestinal no desempenho de frangos de corte**. 2016. Disponível em: <https://www.ourofino Saudé animal.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/importancia-da-qualidade-intestinal-no-desempenho-/>. Acesso em: 10 jun. 2021

OUWEHAND, A. C. et al. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. **Journal Int. Dairy**, v.9, p.623-630, 1999.

PACK M. **Ideal protein in broilers**. In. Feedback Special; Frankfurt, Alemanha. 1996. 1-13p, 1996.

PEEK, H.W; Landman, W.J.M. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. **Veterinary Quarterly**, 31, 143–161, 2011.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A. Utilização de probióticos e/ou prebióticos como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Suplemento 6, p. 17, 2004.

PIRÁGINE, M. R. Coccidiose Aviária. A base Comércio e Representações Ltda. 2010.

PIRALI-KHEIRABADI, Kh et al. Efeito da administração de medicamentos anticoccidianos na eliminação de oocistos e no desempenho em coccidiose experimental em frangos de corte. n **Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 2, p. 67-73, 2008.

PRADO, O. R. Ocorrência de Eimeria acervulina, E. maxima, E. tenella e E. mitis em frangos de corte na região oeste de Santa Catarina. Dissertação. Mestrado em Patologias Veterinária – UFPR. Curitiba, 67p. outubro de 2005.

QAISRANI, s. et al. Dietary factors affecting hindgut protein fermentation in broilers: A review. **World's Poultry Science Journal**, 71(1), 139-160, 2015.

RAMOS, L. S. N. et al. **Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento**. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.

RESCIGNO, M.; DI SABATINO, A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. **Journal Clinical Invest.**, v.119, p. 2441–2450, 2009.

REVOLLEDO, L. Alternativas para o controle de Salmonella. Paper presented at the IX Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, Santa Catarina, 2008.

REVOLLEDO L; Ferreira AJP. Anticoccidial. In: Palermo-Neto J, Spinosa ES, Górnica SL, editores. **Applied Pharmacology for Poultry**. São Paulo: Roca; 2005. p.189-199, 2005.

REYES, H. S. R. et al. Efectos de la aplicacion de bacterias lacticas y ácido lactico en la ganancia de peso y mortalidad en pollos. **Revista Científica**, Zulia, v. 10, n. 4, p. 310-314, 2000.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **The American Journal of Clinical Nutrition**, 71(6):1682s-1687s, 2000.

ROCHA, Patrícia Tironi et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações pré-iniciais contendo diferentes níveis de proteína bruta e energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 2003, v. 32, n. 1, pp. 162-170-2003.

RODRIGO, G. d. I. S. J.; Gil, T. C. Probióticos em avicultura. **Ciência Rural**, 35:741-747, 2005.

RODRIGUES, K.F. et al. Relação lisina digestível: proteína bruta em dietas para frangos de corte no período de 1 a 21 dias de idade. Desempenho e metabolismo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.3, p.450-457, 2008.

ROSTAGNO H.; Pupa JMR.; Pack M. Diet formulation for broilers based on total versus digestible amino acids. **Journal Applied Poultry Research** 1995; 64: 119-126, 1995.

ROSTAGNO, H.S. et al. Efeito de prebiótico (MOS) em rações de frangos de corte contendo milho de diferente qualidade nutricional. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, p.52, 2003b.

SABINO, H.F.N. et al. Níveis protéicos na ração de frangos de corte na fase de crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.407-412, 2004.

SANTOSO U. et al. Effect of dried Bacillus subtilis culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. **British Journal of Nutrition**, v.74, n.4, p.523-529, 1995.

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

SHARMA, VV; Paliwal, PC. Evaluation of cane final molasses in layer rations. **Indian Journal Animal of the Science**, 43 (4): 325-329, 1973.

SHAW, M.H., FREEMAN, G.J., SCOTT, M.F., FOX, B.A., BZIK, D.J., BELKAID, Y., YAP, G.S., Tyk2 negatively regulates adaptive Th1 immunity by mediating IL-10 signaling and promoting IFN- γ dependent IL-10 reactivation. **Journal Immunologic.**, v.176, p.7263–7271, 2006.

SILVA, C. R.; Pinheiro, A. L. B. C. Utilização de probióticos como melhoradores de desempenho em aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, 5(6):690-706, 2008.

SILVA, W. T. M; NUNES, R. U; POZZA, P. C. Avaliação de inulina e prebiótico para frangos de corte. *Acta Scientiarum*. **Animal Science** v. 33, n.1, p. 19 – 24, 2011.

SKLAN, D.; PLAVINIC, I. Interaction between dietary crude protein and essential amino acid intake on performance in broilers. **British Poultry Science**, London, v.43, p.442-449, 2002.

SOUZA, H.B.A.; SOUZA, P.A.; OBASE, S.N. et al. Utilização de rações iniciais para frangos de corte contendo alta e baixa energia associadas ou não a proteína animal, coccidicida e antibiótico. In: conferência de ciência e tecnologia avícolas, p.7, Santos. *Anais...* Santos: APINCO, 1993.

TEIXEIRA, T. F., N. C. et al. Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors. **Clinical. Nutrition**. 31:735–740, 2012.

TOLEDO, G. A.; ALMEIDA, J. D. M.; ALMEIDA, K. S.; FREITAS, F. L. C. Coccidiosis in broiler chickens raised in the Araguaína region, state of Tocantins, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 249-252, 2011.

ULLMAN, J. L. et al. A review of literature concerning odors, ammonia, and dust from broiler production facilities: 4. Remedial management practices. **Journal Applied Poultry Research.**, Champaign, v. 13, p. 521-531, 2004.

VICUNA E.A. et al. Effect of dexamethasone in feed on intestinal permeability, differential white blood cell counts, and immune organs in broiler chicks. **Poultry Science.**; 94:2075–2080, 2015.

VOHRA, A. et al. Probiotic yeasts in livestock sector. **Animal Feed Science and Technology**, v. 21 n. 9: p. 31-47, 2016.

YAISSLE JE, Morishita TY, Lilburn MS. Effects of dietary protein on restrict-fed broiler breeder pullets during a coccidial challenge. **Poultry Science**, 1999.

YALÇIN, S. H. et al. Effect of dietary protein regime on meat quality traits and carcass nutrient content of broilers from two commercial genotypes. *Br. Poultry Science*. V. 51, p. 621–628, 2010.

YIN, G. et al. Co- expression of reporter genes in the widespread pathogen *Eimeria tenella* using a double-cassette expression vector strategy. **International Journal for Parasitology**, Elmsford, v. 41, n. 8, p. 813-816, 2011.

ZUANON, J.A.S. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo antibiótico e probiótico adicionados isoladamente, associados e em uso sequencial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.994-998, 1998.