

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO E RÁPIDO,  
ORIUNDOS DE OVOS INOCULADOS COM PROBIÓTICO,  
SUBMETIDOS A DESAFIO COM *Salmonella Enteritidis* E JEJUM  
APÓS A ECLOSÃO**

Leandro da Silva Chaves  
Orientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

GOIÂNIA  
2007

LEANDRO DA SILVA CHAVES

**FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO E RÁPIDO,  
ORIUNDOS DE OVOS INOCULADOS COM PROBIÓTICO,  
SUBMETIDOS A DESAFIO COM *Salmonella Enteritidis* E JEJUM  
APÓS A ECLOSÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciência Animal para obtenção do grau de Mestre  
em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária  
da Universidade Federal de Goiás

**Área de Concentração:**  
Produção Animal

**Orientador:**  
Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

**Comitê de Orientação:**  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Auxiliadora Andrade  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadja Susana Mogyca Leandro

GOIÂNIA  
2007

## AGRADECIMENTOS

À Deus por me sustentar em todo o tempo, fazendo-me firmar nos objetivos e me dando condições para estar concluindo essa etapa.

Ao professor Marcos Barcellos Café pela orientação, amizade e pela confiança.

À Universidade Federal de Goiás (UFG) e ao Programa de pós-graduação em Ciência Animal pelo suporte financeiro cedido a mim por meio de bolsa de estudos e pela oportunidade ímpar de me tornar mestre em Ciência Animal.

Aos meus pais Leonídio Fernandes Chaves e Oripa da Silva Dias Chaves... pelo suporte emocional, sentimental e inclusive suporte financeiro. Agradeço ainda aos meus irmãos Daniela Dias Fernandes Chaves e Daniel da Silva Chaves pelo estímulo e companheirismo.

À professora Maria Auxiliadora Andrade, pessoa que me deu oportunidade no momento em que precisei... Agradeço ainda pelo carinho, auxílio em todos os momentos e pela eterna amizade.

Aos professores que tanto colaboraram para o meu crescimento profissional e pessoal José Henrique Stringhini, Nadja Susana Mogyca Leandro, Maria Auxiliadora Andrade, Marcos Barcellos Café e Adriana Ayres Pedroso.

Aos companheiros de trabalho que contribuíram com o desenvolvimento dos experimentos: Lorena, Iara Maciel, Gabriel, Gracinda, Bruno, Thales, Lidia, Januária, Juliana, Angela, Érica Procópio, Pedro e Eliete Souza, sem os quais não seria possível a conclusão desse trabalho.

Em especial, à Maria Aparecida não somente por me ensinar o princípio da bacteriologia mostrando o caminho das pedras, mas também pelo companheirismo e ajuda a inúmeros favores.

Aos funcionários da Escola de Veterinária que sempre estiveram prontos a ajudar nas tarefas de rotina dos experimentos: Sr. Idalino, Sr. Enedino, Tânia e Auxiliadora Leão.

À Tatiane Martins Rocha que me suportou ao seu lado durante todo o período experimental me ajudando dia e noite, literalmente, nas análises laboratoriais e em todo o desenvolvimento dos experimentos.

Aos colegas de curso Cícero, Maíra, Fabíola, Anderson Mori, Natali, Candice, Fernandinha Taveira, Cibele Minafra, Sonaide, Karina Ludovico, Rodrigo

Leitão, Mônica Thon, Tatiane Martins e Uilsimar pelos bons momentos e pelo apoio nos momentos de união nos trabalhos árduos!

Aos amigos Regis Silva, Cristina Braga, Reginaldo, Bruna, Lícia, Franz Friendrich, Joabe e Cristiano Castilho pelos momentos de descontração e amizade!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
1 REVISÃO DA LITERATURA.....	1
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	6
2.1 Experimento I.....	6
2.1.1 Local e período.....	6
2.1.2 Manejo na Incubação.....	6
2.1.3 Programa alimentar.....	7
2.1.4 Tratamentos experimentais.....	8
2.1.5 Inoculação dos ovos.....	8
2.1.6 Desafio das aves.....	9
2.1.7 Variáveis avaliadas.....	10
2.1.8 Análises estatísticas.....	11
2.2 Experimento II.....	12
2.2.1 Local e período.....	12
2.2.2 Manejo na Incubação.....	12
2.2.3 Programa alimentar.....	12
2.2.4 Tratamentos experimentais.....	13
2.2.5 Inoculação dos ovos.....	13
2.2.6 Desafio das aves.....	13
2.2.7 Características avaliadas.....	14
2.2.8 Análises estatísticas.....	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
3.1 Experimento I.....	15
3.2 Experimento II.....	30
4 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

## FRANGOS DE CORTE DE CRESCIMENTO LENTO E RÁPIDO, ORIUNDOS DE OVOS INOCULADOS COM PROBIÓTICO, SUBMETIDOS A DESAFIO DE *SALMONELLA ENTERITIDIS* E JEJUM APÓS A ECLOSÃO

**RESUMO:** Dois experimentos foram conduzidos para avaliação do desempenho, desenvolvimento de órgãos e recuperação de *Salmonella* Enteritidis em pintos de diferentes linhagens inoculados com probiótico através da técnica de injeção *in ovo*. O desafio com *Salmonella* sp. e o jejum alimentar foi promovido nos pintos nos momentos seguintes à eclosão. Para tanto, foram utilizadas aves das linhagens ISA Label, Hubbard e Cobb e como probiótico utilizou-se um produto à base de cultura múltipla de microrganismos (Colostrum). Os experimentos foram delineados em blocos casualizados em arranjo fatorial 2x2x2: probiótico (presença ou ausência) x desafio (presença ou ausência) x linhagens (Hubbard ou ISA Label no experimento I e para o experimento II, além do fator probiótico e desafio, foi considerado o fator jejum após a eclosão (zero ou 30 horas). Nos dois experimentos os frangos foram inoculados *in ovo*, no 19º dia de incubação com a cultura de microrganismos e inoculados, no primeiro dia de vida, com *Salmonella* Enteritidis. No segundo experimento, utilizou-se frangos Cobb sendo esses submetidos a jejum total de água e ração, de 30 horas em relação aos tratamentos controle. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando necessário utilizou-se o teste de Tukey (5%). Não foi observada redução da colonização do trato intestinal dos pintos por *Salmonella* Enteritidis com o uso de probiótico ( $P>0,05$ ). A cultura de microrganismos também não proporcionou melhoria nos resultados zootécnicos dos pintos, havendo inclusive menor peso ao nascer das aves inoculadas com a cultura ( $P<0,05$ ). Menores índices de positividade para *Salmonella* spp foram observados em aves mais velhas. No segundo experimento, o fator jejum influenciou negativamente o desempenho das aves sendo que, aves submetidas à restrição alimentar foram mais suscetíveis à infecção por *Salmonella* Enteritidis.

**Palavras-Chave:** desempenho, Hubbard, ISA Label, probiótico *in ovo*, restrição alimentar, salmonelose.

**FAST AND SLOW GROWTH BROILERS FROM INOCULATED EGGS WITH PROBIOTIC AND CHALLENGED BY SALMONELLA ENTERITIDIS AND SUBMITTED TO FASTING AFTER HATCH**

**ABSTRACT:** Two experiments were conducted to evaluate the performance, development of digestives organs and recovered of *Salmonella* Enteritidis in chicks of different genetics lineages inoculated with probiotic using the technique of *in ovo* injection. The challenge with *Salmonella* spp and the feed fasting were promoted in chick's moments after the hatch. The birds ISA Label, Hubbard and Cobb were used in the experiments and the probiotic inoculated was based in multiple microorganism's culture. The experiments were designing in experimental random blocks with factorial arrangement 2x2x2 (probiotic X salmonella challenge X genetic lines). In both experiments the eggs were inoculated by *in ovo* injection at 19 days of incubation with probiotic and challenged with *Salmonella* Enteritidis in first day of age. In second experiment, the Cobb lineage birds were submitted to fasting of water and feed for 30 hours. The data were analyzed by variance analyses and Tukey test. The results showed that was no reduction of *Salmonella* colonization in digestive tract of chicks inoculated with probiotic. The inoculation of probiotic did not improve the performance of the chicks. Lower index of *Salmonella* were observed in older birds. In second experiment the fasting affected negatively the performance of the birds and the birds submitted to fasting were more susceptible to *Salmonella* Enteritidis.

Key Words: feed fasting, Hubbard, *in ovo* injection, ISA Label, performance, probiotic, Salmonellosis.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição percentual da ração fornecida aos pintos de corte na fase inicial de um a 21 dias de idade	7
TABELA 2	Esquema dos tratamentos delineados no experimento tendo como fatores a linhagem, o uso do probiótico e o desafio de <i>Salmonella Enteritidis</i>	8
TABELA 3	Tratamentos do experimento II seguidos de acordo com os fatores probiótico (sem probiótico ou com probiótico), jejum (zero horas ou 30 horas de jejum) e desafio com <i>Salmonella Enteritidis</i> (presença ou ausência do desafio)	13
TABELA 4	Valores de P das variáveis de desempenho: peso do ovo, peso médio da ave (PM), consumo de ração (CR), mortalidade (MORT), e conversão alimentar (CA) avaliados em diferentes idades de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou <i>Salmonella Enteritidis</i>	15
TABELA 5	Peso de ovos de duas linhagens que receberam ou não probiótico no 19º dia de incubação	16
TABELA 6	Peso inicial de aves de duas linhagens que receberam ou não probiótico <i>in ovo</i>	16
TABELA 7	Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de Hubbard e ISA Label recebendo ou não probiótico e/ou <i>Salmonella Enteritidis</i> aos sete dias de vida	17
TABELA 8	Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou <i>Salmonella Enteritidis</i> aos 14 dias de vida	18
TABELA 9	Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou <i>Salmonella Enteritidis</i> aos 21 dias de vida	20
TABELA 10	Valores de P para as variáveis de biometria de órgãos nas diferentes idades.	21
TABELA 11	Dimensões de órgãos de aves com três dias de vida	22
TABELA 12	Biometria de órgãos das aves aos 14 dias de vida	24
TABELA 13	Biometria de órgãos das aves aos 21 dias de vida	26
TABELA 14	Freqüência de isolamento de <i>Salmonella</i> spp. de conteúdo de papo, ceco e saco da gema com 72h de alojamento	27

TABELA 15	Freqüência de isolamento de <i>Salmonella</i> Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema avaliados aos sete dias (Experimento I)	28
TABELA 16	Freqüência de isolamento de <i>Salmonella</i> Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema ao 14 dias (Experimento I)	29
TABELA 17	Freqüência de isolamento de <i>Salmonella</i> Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema ao 21 dias (Experimento I)	29
TABELA 18	Valores de P para as variáveis peso do ovo, peso médio da ave (PM), consumo de ração (CR), mortalidade (MORT), e conversão alimentar (CA) em diferentes idades de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio de <i>Salmonella</i> Enteritidis	31
TABELA 19	Peso inicial (g) das aves submetidas ou não a jejum alimentar após a eclosão oriundos de ovos inoculados ou não com probiótico	31
TABELA 20	Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos recebendo ou não probiótico, <i>Salmonella</i> Enteritidis e sendo submetidos ao jejum aos sete dias de vida	32
TABELA 21	Peso médio (PM), consumo de ração (CRM), mortalidade (MORT) e conversão alimentar (CA) de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio por <i>Salmonella</i> Enteritidis aos 14 dias de vida	33
TABELA 22	Peso médio (PM), consumo de ração (CRM), mortalidade (MORT) e conversão alimentar (CA) de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio por <i>Salmonella</i> Enteritidis aos 21 dias de vida	34
TABELA 23	Valores de P para as variáveis de medidas biométricas de órgãos das aves realizadas aos quatro, sete, 14 e 21 dias	36
TABELA 24	Biometria de órgãos de aves aos quatro dias de vida	37
TABELA 25	Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves aos sete dias	39
TABELA 26	Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 14 dias	41
TABELA 27	Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 21 dias de vida	43

- TABELA 28 Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de 44 conteúdo de papo, ceco e saco da gema com 96 horas
- TABELA 29 Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de 45 conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos sete dias (Experimento II)
- TABELA 30 Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de 46 conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 14 dias (Experimento II)
- TABELA 31 Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de 47 conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 21 dias (Experimento II)

## 1 REVISÃO DA LITERATURA

As áreas de nutrição, melhoramento genético, manejo, biossegurança e biosseguridade na avicultura nacional e mundial têm passado por processos de aprimoramento para melhor atender o mercado consumidor. A produção de carne de aves e derivados tem crescido em proporções consideráveis nos últimos anos em todo o mundo, não sendo diferente no Brasil. A importância da avicultura no país está refletida no volume de carne produzido e nos índices econômicos de exportação. Contando com aproximadamente 15% da carne de frango produzida no mundo, o Brasil é, desde 2004, o maior exportador mundial do produto, em toneladas, conforme dados da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos, ABEF.

Para a preservação do mercado, melhor comercialização dos produtos avícolas e manutenção da boa produtividade, é de suma importância o acompanhamento do *status* sanitário dos lotes avícolas brasileiros, sendo que a qualidade microbiológica dos produtos deve ser constantemente monitorada seguindo regulamentos que são ditados pelos departamentos de inspeção e fiscalização de produtos de origem animal, efetuado nacionalmente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA. Esses órgãos, juntamente com o apoio dos estados, municípios e de empresas do meio avícola, vêm tentando solucionar um dos principais problemas sanitários enfrentados pelos produtores e exportadores brasileiros de frangos: as Salmoneloses aviárias. Essas, além de causar depressão na produtividade, acabam afetando a atividade com os embargos e barreiras impostas pelos países importadores, prejudicando a exportação e consequentemente a economia brasileira.

A *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis juntamente com o sorovar Typhimurium estão entre os principais sorovares que promovem o paratípico aviário e estão associados a casos de toxinfecções alimentares em seres humanos. Essas são bactérias que se adaptam muito bem ao trato intestinal de galinhas e perus, podendo persistir no trato entérico por várias semanas (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). No Brasil, e particularmente no estado de Goiás, a *Salmonella* Enteritidis tem sido isolada com relativa freqüência de produtos avícolas o que

tem colocado em risco a produção e a comercialização de tais produtos (ROCHA, 2001).

Os antimicrobianos são ferramentas que, eficientemente, foram utilizados nas dietas avícolas por muito tempo, com o objetivo de controlar e erradicar patógenos persistentes no trato entérico como as salmoneloses. Os antibióticos promotores de crescimento quando aplicados na avicultura tornam possível a garantia dos bons resultados da atividade, entretanto, esses aditivos têm sido evitados em decorrência do maior controle de resíduos na carcaça e pela própria exigência de mercados importadores da carne e dos processados de frango. Alguns desses aditivos que até pouco tempo não eram tão utilizados como os probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, óleos essenciais e enzimas passaram a tomar lugar de destaque na produção e sanidade animal e têm sido testados com o intuito de substituir os antibióticos e manter o desempenho animal proporcionando saúde intestinal.

Os probióticos são aditivos alimentares capazes de exercer efeitos benéficos no hospedeiro animal otimizando o desempenho, promovendo equilíbrio da microflora bacteriana intestinal e/ou auxiliando na resistência a doenças (FULLER, 1989; ITO et al., 2005). Eles podem competir por nutrientes e por sítios de adesão nos enterócitos e produzir compostos antibacterianos, o que suprime células viáveis prejudiciais ao organismo animal (FULLER, 1989). Outra forma de atuação dos probióticos é a de promover alteração do metabolismo microbiano aumentando ou diminuindo a atividade enzimática autóctone levando ao estímulo da imunidade animal, aumentando os níveis de anticorpos e da atividade macrocítica-fagocitária nos locais de colonização.

Existem, no mercado, dois tipos de produtos denominados probióticos: os de cultura indefinida (com composição variada, desconhecida e muitas vezes descrito no rótulo genericamente como bactérias láticas) e os de cultura definida com composição dos microrganismos presentes especificados no rótulo do produto citando gênero e espécime. Descrevendo a funcionalidade e eficácia desses dois tipos de produtos para frangos, TIMMERMAN et al. (2004) verificaram que culturas múltiplas foram superiores baseados nos resultados de desempenho e mortalidade das aves.

A microbiota presente no trato gastrintestinal do pinto é adquirida

naturalmente até a segunda semana de vida no intestino delgado (BARNES et al., 1980) estabelecendo-se nos cecos até a quarta semana (MEAD & ADAMS, 1975). Para que a colonização seja feita por microrganismos benéficos, várias técnicas de aplicação de probióticos têm sido testadas em lotes avícolas. Dentre tais modos de aplicação, estão disponíveis aspersão da solução de cultura de microrganismos sobre as aves de um dia via *spray*, ainda no incubatório; diluição do produto na primeira água de bebida da ave; inclusão na ração farelada ou mesmo peletizada e há ainda um processo de aplicação, relativamente recente que vem sendo testado que é a inoculação da cultura de microrganismos em ovos embrionados.

A administração de substâncias em ovos embrionados foi realizada originalmente para aplicação de vacinas, objetivando-se a imunização antes do nascimento das aves (FERKET et al., 2005). JOCHEMSEN & JEURISSEN (2002) inocularam substâncias com marcadores pela mesma máquina de vacinas no âmnio no 18º dia e encontraram a substância inoculada após 48 horas de administração, nas vias oral e respiratória, intestinos, pulmão, fígado e na bursa. A técnica da inoculação *in ovo* possui vantagem sobre as demais por garantir o contato das bactérias benéficas com o trato gastrintestinal das aves antes que haja eclosão das mesmas. Partindo desse pressuposto, através da ingestão do conteúdo alantoideano, as aves ingerem o probiótico antes de haver a eclosão e o contato com bactérias ambientais prejudiciais.

LEANDRO et al. (2004) inocularam 0,3 mL de probióticos *in ovo*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* e *Enterococcus faecium*, na dosagem de  $10^6$  UFC/ ovo, aos 16 dias de incubação e realizaram desafio desses pintos no primeiro dia de vida com *Salmonella Enteritidis*, com 0,1 mL de solução contendo  $13,6 \times 10^6$  UFC/mL via papo. Tais autores constataram que os pintos desafiados apresentaram melhores resultados zootécnicos quando receberam o probiótico e ainda observaram que aos sete e 21 dias de idade, a *Salmonella* sp. foi identificada somente nas aves desafiadas que não receberam o probiótico, sugerindo que o probiótico evitou a colonização da bactéria no trato gastrintestinal.

Outro fator que predispõe as aves à redução do desempenho e que as torna mais susceptíveis a microrganismos enteropatogênicos está diretamente

relacionado ao período em que o animal permanece sem receber água e ração após a eclosão (BAIÃO & CANÇADO, 1998). O prejuízo provocado por essa restrição alimentar, período entre a eclosão e o alojamento, ocorre com relativa freqüência na maioria dos incubatórios do Brasil, geralmente, quando o destino das aves não é um local próximo à empresa fornecedora de pintos. Aves submetidas à restrição alimentar na fase inicial de vida apresentam pior desempenho zootécnico em relação aos que são alojados com menos de um dia após a eclosão (BAIÃO & CANÇADO, 1998). A perda de peso das aves, conforme GUSTIN (2003), está diretamente relacionada à duração da privação de alimento e água, bem como ao tempo em que os pintos permanecem no incubatório após a eclosão até o momento da expedição. Por haver correlação entre peso da primeira semana e peso ao abate (MAIORKA et al., 2006), as mudanças ocorridas nesse intervalo podem prejudicar severamente o desempenho de frangos não somente na fase inicial mas também persistir a diferença de peso e rendimento do produto final.

Em frangos da linhagem Hubbard, o efeito desse intervalo sobre o desempenho dos frangos foi estudado por BAIÃO & CANÇADO (1998). As aves alojadas 24, 48 e 72 horas após a eclosão tiveram perda de peso diretamente proporcional ao período de tempo levado até alojamento, já que os pintos permaneceram em jejum nesse período. Na primeira semana, os pesos dos animais experimentais alojados 72 horas após a eclosão foram significativamente inferior ( $P<0,05$ ) aos pesos das aves dos demais tratamentos.

O jejum alimentar pode influenciar o desenvolvimento e consequentemente a eficiência dos órgãos digestórios das aves. GONZALES et al. (2003) mensurando esses órgãos em aves que sofreram tal restrição nos períodos de 30 e 48h após eclosão, verificaram influência negativa ( $P<0,05$ ) na biometria dos órgãos. Os autores descreveram que esse fato pode ser a principal causa na depressão do desempenho de aves em idade de abate. O desenvolvimento do trato gastrintestinal de forma mais lenta já havia sido observado por NOY & SKLAN (1999) quando afirmaram que o desenvolvimento do intestino delgado ocorre tanto na presença quanto na ausência de alimento, sendo que na ausência, os crescimentos absolutos e relativos são diminuídos.

A escolha da linhagem de frango de corte utilizada na criação tem grande importância quando se pretende obter bons resultados de desempenho. Para o aprimoramento das aves, quanto às características ideais do frango abatido, empresas do ramo genético têm trabalhado incessantemente direcionando as principais linhagens de frango de corte para maior rendimento de carcaça e mais especificamente para maior rendimento de carnes nobres. As diferentes linhagens de frangos de corte, por apresentar características fisiológicas e imunológicas distintas, possuem particularidades ainda não totalmente explicadas. Entretanto, aves com intenso melhoramento genético objetivando carcaça, podem perder características importantíssimas como a rusticidade e resistência a doenças. Já linhagens consideradas pouco melhoradas e de desenvolvimento corporal mais lento, utilizadas principalmente em criações orgânicas ou alternativas, detêm, supostamente, de componentes genéticos que garantam resistência a determinadas enfermidades (WIGLEY, 2004).

Em condições experimentais, frangos de corte de crescimento lento, ISA Label, apresentam menor excreção fecal de *Salmonella Enteritidis* previamente inoculada quando comparados a frangos de crescimento rápido da linhagem Ross. Dessa maneira, a linhagem pode ser artifício a ser utilizado na estratégia de controle da salmonelose aviária, sugerindo haver maior resistência da linhagem de crescimento lento à colonização pelo microrganismo (ANDRADE, 2005).

A identificação de genes de resistência e a determinação de seus mecanismos de atuação, identificando fatores que influenciam a resistência, são foco dos recentes avanços da genética e imunologia dos animais domésticos e particularmente das aves (WIGLEY, 2004).

Para avaliar a eficiência do uso do probiótico *in ovo* na prevenção da colonização do trato gastrintestinal de pintos de um dia por *Salmonella Enteritidis* foi desenvolvido o trabalho que teve como objetivo mensurar desempenho, desenvolvimento de órgãos e recuperação do microrganismo de aves de três linhagens de frangos de corte inoculados *in ovo* com probiótico e desafiados no primeiro dia de vida com o patógeno. Foi utilizado como fator estressante para as aves o jejum alimentar total de água e ração, durante as primeiras 30 horas após a eclosão.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Experimento I: Desempenho, morfometria de órgãos e recuperação de *Salmonella Enteritidis* em pintos de corte de duas linhagens oriundos de ovos inoculados com probiótico e desafiados após a eclosão

#### 2.1.1 Local e período

O experimento foi realizado nos isolamentos do Hospital Veterinário e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás durante os meses de abril e maio de 2006.

#### 2.1.2 Manejo na Incubação

Os ovos férteis foram previamente classificados em relação ao peso e os trincados e deformados foram eliminados. Utilizou-se 720 ovos, provenientes de matrizes entre 35 e 50 semanas de idade, que foram numerados, pesados e incubados em máquinas Premium Ecológica com capacidade para 120 ovos, cada. Para evitar efeito de incubação, cada incubadora foi considerada como um bloco garantido que os tratamentos estivessem presentes em todas as incubadoras. Essas máquinas foram previamente reguladas para condições ideais quanto à umidade e temperatura, 60% e 37,7°C respetivamente.

Foram colocados 120 ovos por incubadora sendo incubados 360 ovos incubáveis da linhagem de crescimento lento ISA Label e 360 da linhagem Hubbard.

### 2.1.3 Programa alimentar

A dieta fornecida às aves durante todo o período experimental foi composta por ração farelada à base de milho moído e farelo de soja, formulada seguindo as recomendações propostas pelo NRC (National Research Council) (1994), objetivando suprir as exigências nutricionais na fase inicial, um a 21 dias (Tabela 1). Produtos antimicrobianos como anticoccidianos e antibióticos promotores de crescimento não foram adicionados à ração.

TABELA 1 – Composição percentual da ração fornecida aos pintos de corte na fase inicial de um a 21 dias de idade

Ingredientes	% de inclusão
Milho	55,299
Farelo de soja (45%)	39,022
Óleo vegetal	1,936
Fosfato bicálcico	1,784
Calcário	1,139
Sal	0,385
Suplemento vitamínico-mineral*	0,250
DL metionina 99	0,185
L-lisina HCl	0,000
Total	100,000
Nutrientes	Atendimento
Proteína bruta (%)	22,500
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,950
Cálcio (%)	1,000
Fósforo Disponível (%)	0,450
Fósforo Total (%)	0,706
Sódio (%)	0,200
Lisina (%)	1,247
Metionina + cistina (%)	0,900
Metionina (%)	0,531
Treonina (%)	0,883
Triptofano (%)	0,306

\*Suplemento vitamínico-mineral para aves – FRANGO INICIAL L20

Níveis de garantia por quilograma do produto:

Vit. A 4.000.000 UI, Vit.D3 1.000.000 UI, Vit. E 10.000 UI, Vit. K3 1.200,0 mg, Vit. B1 800,4 mg, Vit. B2 2.400,0 mg, Vit. B6 1.600,0 mg, Vit B126.000,0 mcg, Ac. Nicotínico 16.000,0 mg, Ac. Pantotênico 6.000,0 mg, Biotina 40,0 mg, Ac. Fólico 400,0 mg, Ferro 2.000,0 mg, Cobre 4.000,0 mg, Zinco 20.000,0 mg, Manganês 32.000,0 mg, Selênio 120,0 mg, Iodo 400,0 g, Cobalto 400,0 g, Violeta Genciana 8,0 g, Antioxidante 12,0 g, Véículo q. s. p. 1.000,0 g.

### 2.1.4 Tratamentos experimentais

Esse experimento foi delineado em blocos casualizados, em fatorial 2 x 2 x 2 (linhagem ISA Label ou Hubbard, com ou sem probiótico e com ou sem desafio de *Salmonella Enteritidis*).

Os ovos inoculados com probiótico foram incubados em máquinas separadas daquelas onde estavam os ovos controle para evitar a disseminação dos microrganismos entre tratamentos. Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados a distribuição dos tratamentos.

**TABELA 2 – Esquema dos tratamentos delineados no experimento tendo como fatores a linhagem, o uso do probiótico e o desafio de *Salmonella Enteritidis***

Linhagem	Probiótico	Desafio
Hubbard	Sem	Presente
Hubbard	Sem	Ausente
Hubbard	Com	Presente
Hubbard	Com	Ausente
ISA Label	Sem	Presente
ISA Label	Sem	Ausente
ISA Label	Com	Presente
ISA Label	Com	Ausente

O probiótico foi inoculado nos ovos embrionados no 19º dia de incubação e o desafio com *Salmonella Enteritidis* foi realizado no primeiro dia de vida das aves via trato gastrintestinal, aplicado diretamente no inglúvio.

### 2.1.5 Inoculação dos ovos

No 19º dia de incubação, os ovos embrionados foram retirados das incubadoras em pequenos grupos e antes de realizar a perfuração da casca para inoculação do probiótico, procedeu-se à anti-sepsia com solução de iodo a 3% na casca na região da câmara de ar. A abertura feita com broca esterilizada de 15mm e mini-furadeira elétrica foi utilizada para introdução de agulha (0,70 x

25mm) até a cavidade alantóidea onde foi injetada a solução com os microrganismos vivos. O produto com níveis de garantia de  $10^6$  UFC/mL de bactérias anaeróbias,  $10^5$  UFC/mL de *Enterococcus* sp.,  $10^4$  UFC/mL de coliformes não patogênicos e  $10^6$  UFC/mL de bactérias produtoras do ácido lático foi diluído chegando à concentração de 0,03% em água destilada esterilizada. Foi administrado 0,3 mL de solução por ovo. Para os grupos controles foram injetados 0,3 mL de água destilada na cavidade. Após a inoculação, o orifício na casca foi vedado com parafina fundida e os ovos recolocados nas incubadoras.

## 2.1.6 Desafio das aves

A *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4 utilizada para preparação do inóculo foi isolada em amostras de carcaças de frangos no estado de Goiás. Para obtenção do inóculo, a cepa foi repicada em ágar MacConkey e incubada a 37 °C por 18-24h. Em seguida, as células foram suspensas em solução salina tamponada a 0,85%, mantidas a 4 °C e concentração de  $5 \times 10^3$  UFC/mL ajustada com auxílio da escala de Mac Farland (FERNÁNDEZ et al., 2001). A concentração foi confirmada pelo plaqueamento das diluições decimais seriadas em ágar MacConkey, com posterior incubação a 37 °C e contagem das UFC de *Salmonella* sp. (BRADSHAW et al. 1990).

Metade das aves do tratamento com probiótico e metade das aves do tratamento controle foram desafiadas injetando 0,3 mL de solução contendo aproximadamente  $1,5 \times 10^2$  UFC de *Salmonella* Enteritidis diretamente no íngüvio. Aves desafiadas e não desafiadas foram alojadas separadamente para evitar colonização e contaminação entre os tratamentos, tendo o cuidado de manter a mesma ambiência.

## 2.1.7 Variáveis avaliadas

### Desempenho

Para análise do desempenho das aves foram feitas pesagens dos animais para observar o peso médio (PM), obtido dividindo-se o peso total das aves de cada parcela pelo número médio de aves da parcela,  $PM=PF/NMA$ . O consumo de ração (CR) foi registrado observando a razão entre o consumo de ração total (fornecido subtraído da sobra) e o número médio de aves. O índice de conversão alimentar (CA) foi calculado pela razão consumo de ração/ ganho de peso. Os mortos foram pesados e anotados para análise estatística, realizando a transformação do valor em percentagem de mortalidade em Arc seno seguindo a fórmula  $((%Mort. /100)+0,05)^{0,5}$ .

As pesagens regulares das aves e da ração foram feitas com um, sete, 14 e 21 dias de idade para cálculo de peso médio, consumo de ração e conversão alimentar. As aves mortas foram identificadas e pesadas para o ajuste do consumo de ração e conversão alimentar.

### Biometria do sistema digestório

Para determinação dos índices biométricos, uma ave por parcela foi sacrificada com três, sete, 14 e 21 dias, sendo o peso da ave e dos órgãos digestórios anotados para cálculo da relação peso de órgão/peso da ave. Na necropsia, os pesos dos órgãos: esôfago+inglúvio, proventrículo + moela, intestino delgado, intestino grosso, fígado, pâncreas, baço, saco da gema e bursa foram anotados, além de ser computado ainda o comprimento do intestino delgado. As aves foram submetidas, previamente à necropsia, a jejum alimentar de seis horas para eliminação do conteúdo presente no lúmen do trato digestório.

### Pesquisa de *Salmonella* sp.

A pesquisa da *Salmonella* Enteritidis foi realizada de acordo com GEORGIA POULTRY LABORATORY (1997). Amostras de conteúdo de inglúvio, conteúdo cecal e saco da gema de aves controle e infectadas foram coletados com swabs esterilizados no momento da necropsia com três, sete, 14 e 21 dias para análise microbiológica e tentativa de isolamento da bactéria inoculada. As

amostras foram inoculadas em tubos contendo caldo de enriquecimento seletivo Selenito de Cistina® (MERCK) e caldo Tetratrationato incubados em estufa a 37°C por 24h. Os meios utilizados para isolamento e identificação da *Salmonella* Enteritidis foram o ágar para enterobactérias Hecktoen® (MERCK) e Verde brilhante-rosso fenólico para microbiologia® (MERCK). Colônias sugestivas de *Salmonella* sp. foram transferidas para tubos contendo Agar TSI (triple sugar iron) e foram colocados em estufa a 37°C por 24h. Para confirmação do microrganismo pesquisado foram realizados os seguintes testes bioquímicos: produção da urease, produção de indol, vermelho de metila, motilidade, utilização do malonato e de lisina descarboxilase. Para confirmação do microrganismo, as amostras positivas foram testadas realizando sorologia para *Salmonella* Enteritidis.

### **2.1.8 Análises estatísticas**

Para variáveis quantitativas, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento *general linear model* (GLM) do pacote estatístico do SAS. A comparação de médias foi efetuada utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

## **2.2 Experimento II: Inoculação de Probiótico *in ovo* sobre desempenho, morfometria de órgãos e recuperação de *Salmonella Enteritidis* em pintos desafiados no primeiro dia de vida e submetidos a jejum após a eclosão**

### **1.2.1 Local e período**

O experimento foi realizado nos isolamentos do Hospital Veterinário e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás durante os meses de junho e julho de 2006.

### **2.2.2 Manejo na Incubação**

Os ovos férteis foram previamente classificados em relação ao peso e os trincados e deformados foram eliminados. Utilizou-se 600 ovos, provenientes de matrizes entre 37 e 50 semanas de idade, que foram numerados, pesados e incubados em máquinas Premium Ecológica com capacidade para 120 ovos, cada. Para evitar efeito de incubação, cada incubadora foi considerada como um bloco garantindo que os tratamentos estivessem presentes em todas as incubadoras. Essas máquinas foram previamente reguladas para condições ideais quanto à umidade e temperatura, 60% e 37,7°C respectivamente. Foram colocados 100 ovos por incubadora com o total de 600 ovos provenientes de matrizes da linhagem Cobb.

### **2.2.3 Programa alimentar**

O programa alimentar determinado para o experimento II foi semelhante ao programa alimentar preparado e oferecido às aves do experimento I (Tabela 1).

## 2.2.4 Tratamentos experimentais

O experimento foi delineado em blocos casualizados, como no primeiro experimento, sendo o fatorial 2 x 2 x 2 composto por uso ou não do probiótico, desafio ou não das aves e por último o jejum ou não após o nascimento. Os ovos inoculados com probiótico foram incubados em máquinas separadas das máquinas onde estavam ovos controle para evitar a disseminação dos microrganismos entre tratamentos. A inoculação do probiótico e o desafio das aves foram feitos de forma semelhante ao realizado no experimento I. A Tabela 3 discrimina a distribuição dos tratamentos no alojamento.

TABELA 3 – Tratamentos do experimento II seguidos de acordo com os fatores probiótico (sem probiótico ou com probiótico), jejum (zero hora ou 30 horas de jejum) e desafio com *Salmonella Enteritidis* (presença ou ausência do desafio)

Probiótico	Período de Jejum	Desafio
Sem	0h	Presente
Sem	0h	Ausente
Sem	30h	Presente
Sem	30h	Ausente
Com	0h	Presente
Com	0h	Ausente
Com	30h	Presente
Com	30h	Ausente

## 2.2.5 Inoculação dos ovos

A inoculação e as respectivas dosagens do probiótico foram realizados da mesma forma que o realizado no primeiro experimento.

## 2.2.6 Desafio das aves

No primeiro dia de vida, foram realizados os procedimentos para o desafio das aves introduzindo o patógeno diretamente no inglúvio dos pintos aplicando a

mesma técnica e metodologia para o desafio com *Salmonella Enteritidis* realizado no experimento I.

### **2.2.7 Características avaliadas**

O desempenho, a biometria do sistema digestório e a pesquisa de *Salmonella* sp. foram as características avaliadas no experimento II, seguindo a mesma metodologia de trabalho desenvolvida no experimento I.

### **2.2.8 Análises estatísticas**

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento *general linear model* (GLM) do pacote estatístico do SAS. Quando necessário, a comparação das médias foi efetuada utilizando o teste de Tukey, 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Experimento I

As interações entre os fatores estudados no experimento um (salmonela x probiótico x linhagem), expressas pelos valores das probabilidades (P) para desempenho, podem ser observadas na Tabela 4.

TABELA 4 – Valores de P das variáveis de desempenho: peso do ovo, peso médio da ave (PM), consumo de ração (CR), mortalidade (MORT), e conversão alimentar (CA) avaliados em diferentes idades de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou *Salmonella Enteritidis*

	Salm	Prob	Linha	Salm * Prob	Salm * Linha	Prob * Linha	Salm * Prob * Linha
<b>Ovo</b>							
<b>Peso</b>	0,5717	<,0001				0,9054	
<b>1 dia</b>							
<b>PM</b>	0.0017	0.0025				0.5489	
<b>7 dias</b>							
<b>PM</b>	0.9802	0.0780	<.0001	0.8064	0.8938	0.9750	0.1513
<b>CR</b>	0.8446	0.3626	<.0001	0.4477	0.6301	0.2944	0.1391
<b>MOR</b>	0.8702	<.0001	0.8810	0.0710	0.0115	0.9292	0.0057
<b>T</b>							
<b>CA</b>	0.7986	0.0247	0.0002	0.5381	0.1679	0.0911	0.1105
<b>14 dias</b>							
<b>PM</b>	0.8343	0.0001	<.0001	0.5437	0.1053	0.7018	0.0483
<b>CR</b>	0.7881	0.0232	<.0001	0.8791	0.2903	0.5929	0.1659
<b>MOR</b>	0.9842	<.0001	0.1471	0.2436	0.0483	0.2385	0.0179
<b>T</b>							
<b>CA</b>	0.2910	0.0626	0.0001	0.8717	0.3492	0.1300	0.5232
<b>21 dias</b>							
<b>PM</b>	0.6014	0.0034	<.0001	0.2227	0.7228	0.8207	0.2000
<b>CR</b>	0.8686	0.0002	<.0001	0.5115	0.2257	0.9007	0.0161
<b>MOR</b>	0.3704	<.0001	0.2538	0.3303	0.0166	0.4645	0.0090
<b>T</b>							
<b>CA</b>	0.0077	0.4843	<.0001	0.2579	0.0160	0.9378	0.1718

Os resultados das interações entre os fatores estudados mostram que a interação entre linhagem e salmonela é mais pronunciada que a interação entre linhagem e probiótico. Esses resultados concordam com os resultados obtidos por ANDRADE (2005), que observando menor positividade para *Salmonella* sp. em

frangos de crescimento lento, certificou que a linhagem pode ser determinante no maior ou menor percentual de aves infectadas por *Salmonella Enteritidis*.

Os valores de P mostram que com sete, 14 e 21 dias houve interação para mortalidade entre os fatores salmonela e linhagem e para interação tripla salmonela, probiótico e linhagem. Para peso médio, verificou-se interação somente aos 14 dias entre os fatores salmonela, probiótico e linhagem com valor de P próximo aos 5%. Aos 21 dias, houve interação entre salmonela e linhagem para conversão alimentar e na mesma data verificou-se interação tripla para a mesma variável.

Nas Tabelas 5 e 6 estão apresentados os pesos médios dos ovos incubados e pesos médios iniciais das aves, respectivamente.

**TABELA 5 – Peso de ovos (g) de duas linhagens que receberam ou não probiótico no 19º dia de incubação**

Linhagem	Probiótico -	Probiótico +	Linhagem
Hubbard	62,15 a	62,21 a	62,18 A
Label	60,27 b	60,37 b	60,32 B
CV= 2,96	61,21	61,39	

a, b; A, B – médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Os resultados de peso de ovos mostram diferença somente para a linhagem utilizada com maior peso de ovos da linhagem de crescimento rápido, por ser esta uma linhagem de maior aprimoramento genético na produção de pintos. Essa característica perdura nos resultados de peso inicial das aves (Tabela 6), onde os pintos da linhagem de crescimento rápido, Hubbard, tiveram maior peso que os pintos ISA Label.

**TABELA 6 – Peso inicial de aves (g) de duas linhagens que receberam ou não probiótico *in ovo***

Linhagem	Probiótico -	Probiótico +	Linhagem
Hubbard	40,27 a	39,46 b	39,87 A
Label	39,49 b	38,92 b	39,21 B
CV= 1,61	39,88 X	39,19 Y	

a, b; A, B; X, Y – médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

O peso inicial dos pintos foi influenciado negativamente pelo uso do probiótico (Tabela 6). Foi observado menor peso inicial ( $P<0,05$ ) nas aves provenientes de ovos inoculados com probiótico comparando às que receberam solução salina. Esses dados sugerem que o embrião pode não estar preparado para receber o inóculo de probiótico na forma realizada neste experimento, o que debilitou a ave e provocou perda de peso inicial. Esses resultados não seguem a tendência dos resultados encontrados por COX et al. (1992), que após trabalharem com a introdução de culturas de exclusão competitiva em ovos embrionados de frangos, afirmaram que a inoculação *in ovo* seria uma rota alternativa aplicável comercialmente. Os resultados de desempenho das aves nas diferentes idades podem ser observados nas Tabelas 7, 8 e 9.

TABELA 7 – Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de Hubbard e ISA Label recebendo ou não probiótico e/ou *Salmonella Enteritidis* aos sete dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	145,84 a	137,96 a	119,01	137,38 A
	Com Probiótico	128,11 a	137,60 a	111,19	
Label	Sem Probiótico	93,30 b	98,93 b		91,86 B
	Com Probiótico	90,12 b	83,38 b		
CV=13,65		114,34	116,10		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	111,60 a	102,38 a	86,86	101,26 A
	Com Probiótico	87,00 ab	104,08 a	82,44	
Label	Sem Probiótico	65,41 b	68,06 b		67,28 B
	Com Probiótico	70,54 b	64,57 b		
CV= 21,14		83,64	85,84		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	11,81 d	17,57 cd	15,04 z	21,78
	Com Probiótico	40,00 a	17,73 cd	28,98 w	
Label	Sem Probiótico	13,33 cd	17,45 cd		22,22
	Com Probiótico	23,81 bc	34,28 ab		
CV= 19,06		22,24	21,76		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	1,037 cd	1,105 cd	1,150 z	1,092 A
	Com Probiótico	1,214 bcd	1,004 d	1,295 w	
Label	Sem Probiótico	1,208 bcd	1,248 bc		1,356 B
	Com Probiótico	1,398 ab	1,564 a		
CV= 15,93		1,214	1,232		

a, b, c, d; A, B; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

O peso médio, o consumo de ração e a conversão alimentar foram influenciados significativamente apresentando melhores índices para os

resultados referentes às aves Hubbard, sendo explicado pelo melhoramento genético da linhagem. Aves que receberam o probiótico apresentaram maior mortalidade ( $P<0,05$ ) e pior conversão alimentar quando comparadas às aves que receberam a solução salina. Esses dados de mortalidade concordam com os achados de MEAD (2000) que observou redução da viabilidade de embriões devido ao gás e enzimas proteolíticas produzidos por microrganismos inoculados *in ovo*. A infecção promovida no primeiro dia de vida por *Salmonella Enteritidis* não influenciou as variáveis estudadas aos sete dias. Os resultados do desempenho das aves aos 14 dias podem ser observados na Tabela 8.

TABELA 8 – Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou *Salmonella Enteritidis* aos 14 dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	348,52 a	339,98 a	273,88 z	317,93 A
	Com Probiótico	267,06 b	316,14 a	225,39 w	
Label	Sem Probiótico	203,58 c	203,44 c		181,50 B
	Com Probiótico	174,84 cd	143,52 d		
CV= 13,62		248,50	250,77		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	396,90 a	398,18 a	320,33 z	374,07 A
	Com Probiótico	329,70 b	371,48 ab	282,01 w	
Label	Sem Probiótico	236,98 c	249,26 c		228,28 B
	Com Probiótico	234,44 c	194,42 c		
CV= 16,75		299,00	303,34		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	21,64 c	27,90 bc	25,31 z	31,25
	Com Probiótico	48,56 a	26,90 bc	42,80 w	
Label	Sem Probiótico	24,42 c	27,28 bc		36,86
	Com Probiótico	41,46 ab	54,30 a		
CV= 19,33		34,02	34,09		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	1,221 c	1,254 c	1,316	1,247 A
	Com Probiótico	1,267 c	1,248 c	1,420	
Label	Sem Probiótico	1,361 bc	1,427 bc		1,489 B
	Com Probiótico	1,507 ab	1,660 a		
CV= 12,47		1,339	1,397		

a, b, c, d; A, B; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Como aconteceu aos sete dias, os resultados peso médio, consumo de ração e conversão alimentar da linhagem de crescimento rápido demonstrou dados superiores aos da linhagem ISA Label ( $P<0,05$ ). Houve interação tripla

entre os fatores para peso médio mostrando pior peso em aves da linhagem ISA Label que receberam probiótico e desafio aos 14 dias.

Houve alta mortalidade aos sete dias para aves que receberam o probiótico, com significância. Para o mesmo grupo de aves, houve ainda menor peso médio e consumo de ração ( $P<0,05$ ). A conversão alimentar não foi influenciada significativamente ( $P>0,05$ ) pela cultura de microrganismos administrada nos ovos embrionados.

A presença de *Salmonella Enteritidis* não reduziu os índices de desempenho das aves avaliadas promovendo somente a infecção subclínica. Dessa forma, o microrganismo patogênico não influenciou nos resultados de peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar até os 14 dias. Sabe-se que as perdas econômicas na produção avícola com relação às salmonelas paratípicas ocorrem em decorrência das barreiras e embargos econômicos vindos de mercados consumidores do que em decorrência de perdas no desempenho das aves (BERCHIERI JUNIOR, 2000).

Na Tabela 9 estão dispostos os dados relacionados às variáveis de desempenho avaliadas aos 21 dias. A linhagem influenciou ( $P<0,05$ ) o peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar, observando maior consumo de ração e consequentemente peso médio, e menor mortalidade e conversão alimentar para a linhagem Hubbard nessa idade avaliada.

O probiótico injetado nos ovos embrionados influenciou ( $P<0,05$ ) negativamente o peso médio, o consumo de ração e a mortalidade das aves aos 21 dias, não exercendo diferença estatística para conversão alimentar. Vários trabalhos trazem informações semelhantes às encontradas neste experimento, mostrando que a utilização dos probióticos na produção animal ainda não significa garantia de bons resultados (LODDI et al., 2000; LEANDRO et al., 2003; TRALDI, 2005). As razões para estes resultados podem estar relacionadas à técnica de injeção da cultura *in ovo*, a dosagem empregada do produto e ao tipo de cultura de microrganismos.

Apesar das aves infectadas apresentarem pior conversão alimentar ( $P<0,05$ ) comparado às aves controle, observou-se menor mortalidade nos pintos que albergavam o patógeno. Esses dados confirmam, em parte, as informações de BERCHIERE JÚNIOR (2000) quando afirmou que as salmoneloses paratípicas

se adaptam bem ao trato gastrintestinal da ave podendo não provocar transtornos negativos na produtividade.

TABELA 9 – Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos de duas linhagens recebendo ou não probiótico e/ou *Salmonella Enteritidis* aos 21 dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	767,81 a	727,31 ab	579,08 z	722,26 A
	Com Probiótico	679,23 b	714,68 ab	540,94 w	
	Sem Probiótico	416,70 c	404,50 c		390,23 B
	Com Probiótico	373,86 c	359,72 c		
CV= 8,26		559,40	561,65		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	906,58 a	859,54 a	707,82 z	830,24 A
	Com Probiótico	717,34 b	837,50 a	598,90 w	
	Sem Probiótico	522,02 c	543,14 c		476,48 B
	Com Probiótico	458,80 cd	381,96 d		
CV=12,62		651,18	655,53		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	35,28 a	36,50 a	36,65 z	45,68 A
	Com Probiótico	68,54 c	42,40 ab	58,92 w	
	Sem Probiótico	37,74 a	37,10 a		49,89 B
	Com Probiótico	56,18 bc	38,56 c		
CV= 13,18		49,43 x	46,14 y		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem Probiótico	1,330 a	1,350 a	1,447	1,351 A
	Com Probiótico	1,362 a	1,364 ab	1,474	
	Sem Probiótico	1,502 bc	1,606 cd		1,570 B
	Com Probiótico	1,437 ab	1,728 d		
CV= 7,79		1,406 x	1,512 y		

a, b, c, d; A, B; x, y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Os valores de P (probabilidade) para os fatores e interações entre fatores, com relação aos resultados das variáveis de dimensões de órgãos das aves com três, 14 e 21 dias de vida estão demonstrados na Tabela 10. Nas três etapas de análise de dimensões, poucas interações puderam ser observadas, o que possibilita discutir os dados com base nos efeitos da salmonela, do probiótico e da linhagem separadamente.

TABELA 10 - Valores de P para as variáveis de biometria de órgãos nas diferentes idades.

Órgão <sup>#</sup>	Salm	Prob	Linha	Salm * Prob	Salm * Linha	Prob * Linha	Salm* Prob* Linha
<b>3 dias</b>							
Eso+pa	0.7765	0.2018	0.6681	0.0023	0.1938	0.0092	0.1484
Pro+mo	0.9414	0.2144	0.2016	0.6504	0.8236	0.0774	0.9791
Pdel	0.3294	0.8351	0.0324	0.5155	0.9128	0.7195	0.0715
Cdel	0.4790	0.0537	<.0001	0.2957	0.6032	0.1377	0.0118
Gros	0.4959	0.0772	0.0519	0.6305	0.2734	0.1940	0.0451
Fig	0.8522	0.0437	0.1844	0.2600	0.7885	0.0913	0.7012
Cor	0.4910	0.1207	0.7788	0.6700	0.9313	0.1328	0.5248
SG	0.2423	0.0023	0.0050	0.3619	0.8444	0.2966	0.9875
<b>14 dias</b>							
Eso+pa	0.1270	0.1529	0.4922	0.2565	0.6201	0.9928	0.2306
Pro+mo	0.7398	0.2591	0.0011	0.2606	0.0105	0.8138	0.8886
Pdel	0.2517	0.2775	0.2350	0.6820	0.5480	0.8608	0.6410
Gros	0.1182	0.8043	0.9597	0.1956	0.0549	0.1146	0.4922
Fig	0.5643	0.0145	0.6703	0.1630	0.5756	0.3090	0.6052
Cor	0.3637	0.0243	0.0202	0.8217	0.1577	0.7175	0.3851
Baço	0.8257	0.7771	<.0001	0.7771	0.8915	0.5236	0.9749
Bursa	0.1334	0.5819	0.0033	0.2482	0.0869	0.8720	0.2444
SG	0.9454	0.0016	0.4231	0.2957	0.0351	0.8463	0.0130
Cdel	0.1293	0.9783	<.0001	0.1859	0.8775	0.1524	0.8526
<b>21 dias</b>							
Eso+pa	0.0496	0.9354	0.0489	0.7327	0.7540	0.9578	0.2116
Pro+mo	0.2386	0.8098	<.0001	0.1881	0.4503	0.2012	0.1048
Pdel	0.6079	0.0242	0.0043	0.3114	0.6867	0.3673	0.1828
Gros	0.4793	0.9897	0.1086	0.0227	0.9838	0.2646	0.8148
Fig	0.2110	0.6250	0.4161	0.2512	0.0879	0.7931	0.2171
Cor	0.0807	0.2124	0.0026	0.8211	0.5345	0.3285	0.7359
Baço	0.0056	0.0117	<.0001	0.6729	0.1780	0.6372	0.2287
Bursa	0.5098	0.6049	0.0290	0.7343	0.0630	0.9288	0.9004
SG <sup>##</sup>	-	-	-	-	-	-	-
Cdel	0.9048	0.8439	<.0001	0.4181	0.0636	0.5360	0.9629

<sup>#</sup> Eso+pa (esôfago e papo), Pro+mo (proventrículo e moela), Pdel (peso de intestino delgado), Cdel (comprimento de intestino delgado), Gros (peso de intestino grosso), Fig (fígado), Cor (coração), SG (saco da gema);

<sup>##</sup> Quantidade insuficiente de órgãos para a análise estatística;

Os resultados das dimensões de órgãos das aves com três, 14 e 21 dias de vida estão apresentados nas Tabelas 11, 12 e 13, respectivamente.

Aos três dias de vida, o peso e o comprimento do intestino delgado bem como o peso do saco da gema diferenciaram ( $P<0,05$ ) para as linhagens estudadas.

TABELA 11 – Dimensões de órgãos de aves com três dias de vida

<b>Esôfago+papo (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	1,76 b	1,71 b	1,99	2,11
	Com probiótico	2,17 ab	2,82 a	2,27	
Label	Sem probiótico	2,88 a	1,79 b		2,14
	Com probiótico	1,70 b	2,41 ab		
CV= 26,37		2,08	2,17		
<b>Proventrículo+moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	9,63	9,39	10,10	10,09
	Com probiótico	10,62	10,74	10,58	
Label	Sem probiótico	10,72	10,67		10,59
	Com probiótico	10,34	10,62		
CV= 11,55		10,33	10,35		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	7,32 a	6,57 ab	6,64	7,04 A
	Com probiótico	7,11 a	7,15 a	6,71	
Label	Sem probiótico	6,08 ab	6,61 ab		6,32 B
	Com probiótico	6,84 ab	5,75 b		
CV= 15,22		6,84	6,52		
<b>Comprimento int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	65,15 a	60,36 ab	54,11	58,06 A
	Com probiótico	51,48 bcd	55,26 abc	48,78	
Label	Sem probiótico	42,16 d	48,80 cd		44,84 B
	Com probiótico	50,82 bcd	37,58 e		
CV= 16,35		52,40	50,50		
<b>Peso intestino Grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	1,63 b	1,77 b	1,74	1,73
	Com probiótico	1,87 b	1,64 b	1,95	
Label	Sem probiótico	1,82 b	1,73 b		1,96
	Com probiótico	1,89 b	2,40 a		
CV= 20,04		1,80	1,89		
<b>Fígado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	3,95 b	4,11 ab	4,07 w	4,40
	Com probiótico	4,83 a	4,70 ab	4,47 z	4,14
Label	Sem probiótico	4,00 b	4,20 ab		
	Com probiótico	4,36 ab	3,98 b		
CV= 14,15		4,28	4,25		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,87	0,95	0,94	0,90
	Com probiótico	0,91	0,89	0,86	
Label	Sem probiótico	0,95	0,98		0,89
	Com probiótico	0,79	0,84		
CV=16,94		0,88	0,92		
<b>Saco da Gema (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,73 c	0,79 c	1,88 w	2,05 B
	Com probiótico	2,23 bc	4,45 bc	5,68 z	
Label	Sem probiótico	2,73 bc	3,28 bc		5,51 A
	Com probiótico	6,70 ab	9,33 a		
CV= 95,86		3,10	4,46		

a, b, c, d; A, B; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05);

O maior peso e comprimento de intestino delgado e menor peso do saco da gema verificado na linhagem Hubbard sugere que nesses primeiros dias de vida, o maior desenvolvimento dos intestinos está relacionado ao estímulo promovido pelo conteúdo do saco da gema no trato gastrintestinal (NOY et al., 1996). Esses resultados estão de acordo com UNI et al. (1995) que realizando testes com linhagens de frango observaram que o processo de desenvolvimento de órgãos foram similares para ambas linhagens, entretanto, mostraram que linhagens mais pesadas foram mais rápidas em absorver o conteúdo do órgão.

Maior peso de fígado e saco da gema ( $P<0,05$ ) foram encontrados nas aves que receberam probiótico inoculado *in ovo* mostrando que houve reação por parte da ave com resposta fisiológica à entrada dos microrganismos no organismo animal. Entretanto, para a entrada de *Salmonella Enteritidis* via inglúvio no primeiro dia de vida, não houve influência significativa para as variáveis biométricas com três dias de vida.

Os resultados das dimensões relativas de órgãos das aves aos 14 dias mostram maiores pesos ( $P<0,05$ ) de proventrículo e moela, coração, baço e bursa, e menor comprimento de intestino delgado nas aves da linhagem a ISA Label (Tabela 12).

O maior peso relativo do proventrículo e moela nas aves ISA Label parece ser em função do melhoramento genético ocorrido na linhagem Hubbard, na qual há maior rendimento de carne em detrimento do desenvolvimento dos órgãos internos. Dentro do fator linhagem, não houve diferença estatística para os demais órgãos.

Quanto ao uso do probiótico, houve maior peso de fígado, coração e saco da gema nas aves que receberam o produto *in ovo*. É possível que a dose inoculada tenha sido inadequada, o que pode ter provocado uma proliferação exacerbada dos microrganismos em todo trato gastrintestinal e exercendo influência nos órgãos internos dos pintos.

Apesar da dose inoculada de *Salmonella Enteritidis* ser considerada suficiente para gerar infecção e influenciar no desenvolvimento da ave, mais uma vez não foram observadas alterações nas dimensões dos órgãos avaliados.

TABELA 12- Biometria de órgãos das aves aos 14 dias de vida

<b>Fsôfago+papo (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,92 ab	0,83 ab	0,89	0,84
	Com probiótico	0,86 ab	0,77 b	0,89	
Label	Sem probiótico	0,97 a	0,83 ab		0,88
	Com probiótico	0,82 ab	0,87 ab		
CV= 14,61		0,89	0,83		
<b>Proventrículo+moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	4,92 bc	4,65 bc	5,19	4,94 B
	Com probiótico	5,39 abc	4,72 bc	5,39	
Label	Sem probiótico	5,11 abc	5,97 a		5,63 A
	Com probiótico	5,55 ab	5,90 a		
CV= 11,59		5,24	5,34		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	5,21	5,14	5,30	5,29
	Com probiótico	5,22	5,55	5,54	
Label	Sem probiótico	5,20	5,62		5,55
	Com probiótico	5,51	5,90		
CV= 13,01		5,28	5,57		
<b>Comprimento int. delgado(cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	102,70 a	101,50 a	93,47	100,47 A
	Com probiótico	102,10 a	95,80 ab	93,93	
Label	Sem probiótico	85,50 c	85,80 c		87,28 B
	Com probiótico	92,14 bc	85,70 c		
CV= 7,27		95,61	91,71		
<b>Peso intestino Grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	1,08 c	1,53 abc	1,39	1,40
	Com probiótico	1,35 abc	1,66 a	1,42	
Label	Sem probiótico	1,40 abc	1,57 ab		1,41
	Com probiótico	1,46	1,21 bc		
CV= 23,35		1,32	1,49		
<b>Figado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	2,66 c	2,92 abc	2,88 W	3,03
	Com probiótico	3,40 a	3,14 abc	3,23 Z	
Label	Sem probiótico	2,85 bc	3,12 abc		3,08
	Com probiótico	3,17 abc	3,20 ab		
CV= 13,44		3,02	3,10		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,73 a	0,76 a	0,82 W	0,81 B
	Com probiótico	0,92 ab	0,84 a	0,93 Z	
Label	Sem probiótico	0,84 a	0,92 ab		0,93 A
	Com probiótico	0,91 ab	1,05 a		
CV= 17,36		0,85	0,90		
<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,09 b	0,09 b	0,12	0,09 B
	Com probiótico	0,08 b	0,09 b	0,12	
Label	Sem probiótico	0,14 a	0,14 a		0,15 A
	Com probiótico	0,15 a	0,15 a		
CV= 30,41		0,11	0,12		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

TABELA 12- Biometria de órgãos das aves aos 14 dias de vida (continuação)

Bursa (%)		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,27 bc	0,27 bc	0,31	0,26 B
	Com probiótico	0,26 c	0,25 c	0,29	
Label	Sem probiótico	0,34abc	0,36 ab		0,34 A
	Com probiótico	0,27 bc	0,41 a		
CV= 25,71		0,28	0,32		
Saco da Gema (%)		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,10 b	0,02 b	0,10 W	0,38
	Com probiótico	0,79 a	0,27 b	0,56 Z	
Label	Sem probiótico	0,24 b	0,04 b		0,29
	Com probiótico	0,25 b	1,08 a		
CV= 100,37		0,41	0,25		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

As discretas diferenças mostradas nas idades anteriores para desenvolvimento dos órgãos entre as linhagens estudadas tornaram-se mais evidentes aos 21 dias (Tabela 13), onde foram registrados maiores pesos ( $P<0,05$ ) de esôfago e papo, proventrículo e moela, intestino delgado, coração, baço e bursa em aves de linhagem de crescimento lento, enquanto maior comprimento do intestino delgado foi observado nas aves Hubbard. Esses resultados seguem a tendência da diferença genética da linhagem de crescimento rápido estar voltada para a maior relação produção de carne em detrimento ao desenvolvimento do trato gastrintestinal.

O peso do intestino delgado e do baço foi influenciado pelo probiótico, sendo que aves que receberam o produto *in ovo* tiveram esses órgãos mais pesados em comparação às que não receberam.

Esôfago e inglúvio de aves infectadas por *Salmonella* sp. apresentaram mais leves quando comparadas às aves controle ( $P<0,05$ ). Este fato pode ser explicado pelo menor consumo de ração das aves infectadas resultando em menor desenvolvimento e menor peso do órgão pela ausência de alimento. A infecção promoveu ainda maior peso de baço ( $P<0,05$ ), por ser um órgão do sistema macrocítico-fagocitário, esse maior peso pode ser uma resposta fisiológica do animal frente à presença da bactéria no organismo.

TABELA 13 - Biometria de órgãos das aves aos 21 dias de vida

		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,78 ab	0,64 b	0,74	0,70 B
	Com probiótico	0,72 ab	0,69 ab	0,74	
Label	Sem probiótico	0,79 a	0,77 ab		0,78 A
	Com probiótico	0,82 a	0,73 ab		
CV= 14,68		0,78 X	0,70 Y		
<b>Proventrículo+moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	3,79 d	4,02 bcd	4,24	3,80 B
	Com probiótico	3,54 d	3,85 cd	4,17	
Label	Sem probiótico	4,35 abc	4,82 a		4,65 A
	Com probiótico	4,90 a	4,55		
CV= 9,78		4,10	4,32		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	4,10 b	3,86 b	4,16 W	4,10 B
	Com probiótico	3,95 b	4,50 ab	5,54 Z	
Label	Sem probiótico	4,31 ab	4,38 ab		4,60 A
	Com probiótico	4,91 a	4,87 a		
CV= 11,91		4,32	4,38		
<b>Comprimento int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	107,60 ab	117,36 a	101,50	111,70 A
	Com probiótico	108,80 ab	113,20 a	102,89	
Label	Sem probiótico	92,14 c	88,90 c		92,11 B
	Com probiótico	98,00 bc	88,75 c		
CV= 10,55		101,63	102,75		
<b>Peso intestino Grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,91 b	1,11 ab	1,11	1,05
	Com probiótico	1,13 ab	1,04 ab	1,10	
Label	Sem probiótico	1,08 ab	1,31 a		1,16
	Com probiótico	1,18 ab	1,05 ab		
CV= 18,53		1,09	1,13		
<b>Figado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	3,00 ab	2,89 ab	3,00	2,96
	Com probiótico	3,02 ab	2,95 ab	3,08	
Label	Sem probiótico	2,54 b	3,56 a		3,11
	Com probiótico	3,13 ab	3,25 ab		
CV= 19,20		2,92	3,16		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,71 b	0,76 b	0,77	0,74 B
	Com probiótico	0,73 a	0,76 b	0,81	
Label	Sem probiótico	0,78 b	0,85 ab		0,86 A
	Com probiótico	0,84 ab	0,95 a		
CV= 13,67		0,76	0,82		
<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico	0,07 b	0,07 b	0,10 B	0,08 B
	Com probiótico	0,08 b	0,10 b	0,12 A	
Label	Sem probiótico	0,10 b	0,16 a		0,14 A
	Com probiótico	0,14 a	0,17 a		
CV= 26,77		0,10 Y	0,12 X		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

TABELA 13 - Biometria de órgãos das aves aos 21 dias de vida (continuação)

		Bursa (%)	Controle	Infectado	Probiótico	Linhagem
Hubbard	Sem probiótico		0,29 b	0,34 ab	0,35	0,31 B
	Com probiótico		0,29 b	0,31 ab	0,33	
Label	Sem probiótico		0,41 a	0,34 ab		0,37 A
	Com probiótico		0,40 a	0,33 ab		
CV= 25,14			0,35	0,33		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Os resultados das análises microbiológicas dos conteúdos de inglúvio, ceco e saco da gema estão dispostos nas Tabelas 14, 15, 16 e 17.

TABELA 14 - Freqüência de isolamento de *Salmonella* sp. de conteúdo de papo, ceco e saco da gema com 72h de alojamento

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco Gema	Total
Hubbard sem Probiótico	4/5 (80%)	4/5 (80%)	2/5 (40%)	10/15 (66%)
Hubbard com Probiótico	4/5 (80%)	4/5 (80%)	5/5 (100%)	13/15 (86%)
Label sem Probiótico	5/5 (100%)	3/5 (60%)	5/5 (100%)	13/15 (86%)
Label com Probiótico	4/5 (80%)	5/5 (100%)	3/5 (60%)	12/15 (80%)
Total	17/20 (85%)	16/20 (80%)	15/20 (75%)	48/60 (80%)

Analizando os dados gerais, observou-se que nessa primeira avaliação realizada 72 horas após a administração do inóculo, feito diretamente no inglúvio, foram mais freqüentes os isolamentos de *Salmonella* sp. em conteúdo de papo, 85%.

Na linhagem Hubbard, o uso do probiótico aumentou o percentual de sacos da gema positivos para a *Salmonella* sp. O probiótico favoreceu a exclusão do microrganismo patogênico nas aves da linhagem ISA Label. A freqüência de isolamentos de *Salmonella* sp. foi maior nas aves Hubbard com probiótico e nas aves ISA Label sem probiótico, ambos com 86% de positivos.

O probiótico não promoveu redução de isolamentos de *Salmonella* sp. nas análises das aves da linhagem Hubbard, sendo inclusive maiores os percentuais de positivos para aves que receberam o probiótico. Na linhagem ISA, o probiótico exerceu efeito reduzindo as freqüências de isolamentos de *Salmonella* sp. de conteúdo de papo e saco da gema. Todavia, na mesma linhagem, o probiótico promoveu efeito contrário ao analisar o conteúdo de ceco,

onde a amostragem desses órgãos de aves que receberam os microrganismos *in ovo* resultou em 100% de alíquotas positivas para *Salmonella* sp.

Conforme descrito na Tabela 15, as freqüências de amostras positivas das análises microbiológicas de conteúdos de papo, ceco e saco da gema, aos sete dias, foram menores que às encontradas com 72 horas. Esse fato está de acordo como o conceito de MILNER & SHAFFER (1952), pois com o avançar da idade ocorre o desenvolvimento e a maturidade do sistema imunológico da ave promovendo a eliminação do organismo de microrganismos prejudiciais.

Houve uma redução de isolamento de *Salmonella* sp. em conteúdo de saco da gema a essa idade, todavia, a freqüência de isolamentos do microrganismo de conteúdo cecal praticamente não reduziu com 72 horas, por ser órgão de eleição para sobrevivência e crescimento de *Salmonella* sp.

TABELA 15 - Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de conteúdo de papo, ceco e saco da gema avaliados aos sete dias (Experimento I)

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco Gema	Total
Hubbard sem Probiótico	4/5 (80%)	5/5 (100%)	1/5 (20%)	10/15 (66%)
Hubbard com Probiótico	2/5 (40%)	3/5 (60%)	0/5 (0%)	5/15 (33%)
Label sem Probiótico	1/5 (20%)	5/5 (100%)	0/4 (0%)	6/14 (43%)
Label com Probiótico	3/5 (60%)	2/5 (40%)	4/5 (80%)	9/15 (60%)
Total	10/20 (50%)	15/20 (75%)	5/19 (26%)	30/59 (51%)

Quando não se utilizou probiótico, pôde ser verificado maior resistência ao patógeno na Linhagem de crescimento lento, ISA Label com 40% contra 66% nas aves Hubbard. Já quando o uso do probiótico foi feito, melhor índice foi notado para a Linhagem Hubbard sendo este tratamento o de menor índice de positividade para *Salmonella* sp.

Os resultados de isolamentos de *Salmonella Enteritidis* aos 14 dias seguem a tendência do que ocorreu anteriormente, com redução de amostras positivas para papo e mantendo alta a porcentagem para ceco (Tabela 16).

Normalmente o saco da gema é totalmente absorvido até o décimo dia de vida, contudo, a presença de alguns sacos da gema remanescentes foi registrada na avaliação realizada aos 14 dias, fato esse que pode estar relacionado às infecções paratípicas.

TABELA 16 - Freqüência de isolamento de *Salmonella* Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 14 dias (Experimento I)

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco Gema	Total
Hubbard sem Probiótico	1/5 (20%)	4/5 (80%)	0/3 (0%)	5/13(38%)
Hubbard com Probiótico	0/5 (0%)	3/5 (60%)	3/4 (75%)	6/14 (43%)
Label sem Probiótico	2/5 (40%)	4/5 (80%)	1/4 (25%)	7/14(50%)
Label com Probiótico	2/5 (40%)	5/5 (100%)	1/2 (50%)	8/12(67%)
Total	5/20 (25%)	16/20 (80%)	5/13 (45%)	26/53 (49%)

Independente da utilização do probiótico, a linhagem Hubbard foi mais resistente que a ISA Label, sendo que a menor taxa de isolamento de *Salmonella* sp. foi encontrada no tratamento da linhagem Hubbard sem probiótico. Observando os dados gerais para ambas as linhagens, o probiótico pareceu não auxiliar na eliminação do microrganismo patogênico.

A tendência de persistência do saco da gema apareceu ainda nos resultados aos 21 dias (Tabela 17), quando dentre 20 aves, 11 órgãos ainda foram encontrados nesses tratamentos desafiados resultando num percentual de 55%. Nos tratamentos controle, ou seja, salmonela negativo, foram encontrados somente seis órgãos em 20 aves, totalizando 30%.

O uso de probiótico pareceu exercer efeito colonizador reduzindo a positividade de *Salmonella* sp. em aves da linhagem de crescimento lento. Para linhagem de crescimento rápido houve um comportamento exatamente oposto.

TABELA 17 - Freqüência de isolamento de *Salmonella* Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 21 dias (Experimento I)

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco Gema	Total
Hubbard sem Probiótico	1/5 (20%)	2/5 (40%)	1/4(25%)	4/14 (28%)
Hubbard com Probiótico	1/5 (20%)	5/5 (100%)	1/2 (50%)	7/12 (58%)
Label sem Probiótico	0/5 (0%)	4/5 (80%)	1/2(50%)	5/12 (42%)
Label com Probiótico	0/5 (0%)	3/5 (60%)	1/3 (33%)	4/13 (31%)
Total	2/20 (10%)	14/20 (70%)	4/11 (36%)	20/51 (39%)

Nas aves ISA Label, nessa idade, não foi detectada presença de *Salmonella* sp. no interior do papo pelas análises microbiológicas. Contudo, nas aves Hubbard, apesar da redução significativa, ainda foi isolada a bactéria em 20% das amostras de conteúdo de papo.

### 3.2 Experimento II

Os resultados das interações significativas mostrando nível de probabilidade (P) nas diferentes idades das aves para as variáveis de desempenho estão dispostos na Tabela 18.

Os pesos médios dos ovos inoculados com placebo e com probiótico foram respectivamente 72,14g e 69,68g. Ao contrário do que ocorreu no experimento I, neste experimento, a ampla faixa de peso dos ovos proporcionou alto coeficiente de variação, cerca de 37%. Isso pode ter ocorrido em decorrência da diferente linhagem utilizada, Cobb. O fato de serem ovos provenientes de incubatórios distintos é outro fator que leva à oscilação no coeficiente de variação dos pesos dos ovos.

O baixo coeficiente de variação do peso inicial das aves possibilitou detectar com maior precisão diferenças estatísticas existentes nos tratamentos experimentais mostrando que o peso inicial das aves não foi influenciado pelo sexo, que foi o bloco utilizado neste experimento, apresentando valor de P acima de 5% (Tabela 18).

As aves que não foram submetidas a jejum e que receberam solução salina, inoculada *in ovo*, apresentaram maior peso inicial, conforme estão apresentados os resultados da Tabela 19. Os pintos referentes ao tratamento com jejum e sem o probiótico obtiveram pesos intermediários enquanto que os menores pesos foram detectados em pintos que receberam probiótico *in ovo* e foram submetidos ao jejum simultaneamente ( $P<0,05$ ).

TABELA 18 - Valores de P para as variáveis peso do ovo, peso médio da ave (PM), consumo de ração (CR), mortalidade (MORT), e conversão alimentar (CA) em diferentes idades de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio de *Salmonella Enteritidis*

Sexo	Prob	Jejum	Salm	Prob* Salm	Jejum* Salm	Prob* Jejum	Prob* Jejum * Salm
<b>Ovo</b>							
<b>Peso</b>	0.2562						
<b>PM</b>	0.9543	<.0001	0.0037				0.6885
<b>PM</b>	0.1481	0.0711	<.0001	0.5418	0.3632	0.7472	0.9027
<b>CR</b>	0.7292	0.2807	<.0001	0.0097	0.0103	0.0512	0.0117
<b>MORT</b>	0.4680	0.0429	0.5110	0.5110	0.9722	0.9722	0.1837
<b>CA</b>	0.0667	0.0029	0.0233	0.0568	0.0021	0.0250	0.0125
<b>1 dia</b>							
<b>PM</b>	0.0104	0.4392	<.0001	0.9420	0.8434	0.4793	0.2681
<b>CR</b>	0.0140	0.1618	0.1004	0.0254	0.0471	0.1154	0.2020
<b>MORT</b>	0.2568	0.0995	0.6230	0.6230	0.9563	0.9563	0.0415
<b>CA</b>	0.6439	0.2048	0.0646	0.0566	0.0605	0.0494	0.1294
<b>7 dias</b>							
<b>PM</b>	0.0097	0.0906	0.0128	<.0001	0.0355	0.8834	0.4833
<b>CR</b>	0.0197	0.0245	0.0023	<.0001	0.1305	0.0177	0.5987
<b>MORT</b>	0.6162	0.0784	0.4202	0.7102	0.6129	0.6162	0.1007
<b>CA</b>	0.8378	0.6826	0.5142	0.7745	0.7434	0.1725	0.0639
<b>14 dias</b>							
<b>PM</b>	0.0104	0.4392	<.0001	0.9420	0.8434	0.4793	0.2681
<b>CR</b>	0.0140	0.1618	0.1004	0.0254	0.0471	0.1154	0.2020
<b>MORT</b>	0.2568	0.0995	0.6230	0.6230	0.9563	0.9563	0.0415
<b>CA</b>	0.6439	0.2048	0.0646	0.0566	0.0605	0.0494	0.1294
<b>21 dias</b>							
<b>PM</b>	0.0097	0.0906	0.0128	<.0001	0.0355	0.8834	0.4833
<b>CR</b>	0.0197	0.0245	0.0023	<.0001	0.1305	0.0177	0.5987
<b>MORT</b>	0.6162	0.0784	0.4202	0.7102	0.6129	0.6162	0.1007
<b>CA</b>	0.8378	0.6826	0.5142	0.7745	0.7434	0.1725	0.0639

Tabela 19 – Peso inicial (g) das aves submetidas ou não a jejum alimentar após a eclosão oriundos de ovos inoculados ou não com probiótico

Jejum	Sem Probiótico	Com Probiótico	Jejum
Sem jejum	45,60 a	44,02 c	44,81 A
Com jejum	45,02 b	43,57 c	44,29 B
Probiótico	45,31 X	43,80 Y	CV=1,02

a, b, c; A, B; X, Y – médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05);

Independentemente do fator jejum, aves que receberam o probiótico tiveram pesos menores (P<0,05) mostrando que a cultura inoculada *in ovo* provocou queda de peso inicial, não trazendo benefícios às aves na situação avaliada. Os resultados do desempenho das aves aos sete dias de vida estão na Tabela 20.

TABELA 20 - Peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar de frangos recebendo ou não probiótico, *Salmonella Enteritidis* e sendo submetidos ao jejum aos sete dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	170,92 a	171,10 a	158,15	168,84 A
	Com Probiótico	1,67 47 a	165,86 a	153,50	
Com Jejum	Sem Probiótico	149,17 b	141,40 bc		142,81 B
	Com Probiótico	138,77 c	141,90 bc		
CV= 4,45		156,58	155,06		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	138,65 a	143,82 a	125,59	138,23 A
	Com Probiótico	140,63 a	129,83 a	129,65	
Com Jejum	Sem Probiótico	112,62 b	107,26 b		117,00 B
	Com Probiótico	139,32 a	108,81 b		
CV= 8,14		132,80 x	122,43 y		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	9,09 b	9,09 b	9,65 w	11,93
	Com Probiótico	13,63 ab	15,90 a	13,12 z	
Com Jejum	Sem Probiótico	9,09 b	11,36 ab		10,85
	Com Probiótico	11,59 ab	11,36 ab		
CV= 14,20		10,85	11,93		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	1,062 b	1,099 b	1,076 w	1,090 B
	Com Probiótico	1,106 b	1,094 b	1,180 z	
Com Jejum	Sem Probiótico	1,044 b	1,099 b		1,166 A
	Com Probiótico	1,425 a	1,096 b		
CV= 7,81		1,159	1,097		

a, b, c, d; A, B; x, y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Menores peso médio, consumo de ração e pior conversão alimentar ( $P<0,05$ ) foram observados nas aves submetidas à jejum após a eclosão, não havendo influência do tratamento sobre a mortalidade dos pintos. Trabalhos descritos anteriormente (BAIÃO & CANCADO, 1998; MAIORKA et al., 2003) fazem referência ao prejuízo no desempenho quando as aves demoram a receber a primeira alimentação.

O probiótico não alterou peso médio e consumo de ração das aves, contudo, foi verificada maior mortalidade e conversão alimentar nas aves que receberam o produto *in ovo* ( $P<0,05$ ). Essa maior mortalidade pode estar relacionada ao menor peso e maior fragilidade das aves que receberam o produto ainda na fase embrionária. Por ser cultura de exclusão competitiva indefinida, ou seja, por não saber quais microrganismos precisamente estão presentes na composição do produto, surge a hipótese de ter microrganismos que tenham debilitado os pintos. A pior conversão alimentar em frangos que recebiam

probiótico já foi observada por alguns autores citando como principal causa a utilização dos nutrientes no trato gastrintestinal pelos próprios microrganismos da cultura (LAURENTIZ, 2000; SANTOS et al., 2004).

Aves infectadas não diferiram significativamente das aves controle, exceto para consumo de ração onde houve menor consumo para as aves desafiadas com *Salmonella Enteritidis* ( $P<0,05$ ).

Como ocorreu aos sete dias, aos 14 dias houve menor peso médio ( $P<0,05$ ) para aves pertencentes aos tratamentos que passaram pelo período de jejum alimentar (Tabela 21).

**TABELA 21**– Peso médio (PM), consumo de ração (CRM), mortalidade (MORT) e conversão alimentar (CA) de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio por *Salmonella Enteritidis* aos 14 dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	435,05 abc	437,30 ab	420,58	443,60 A
	Com Probiótico	458,27 a	443,77 a	426,66	
Com Jejum	Sem Probiótico	405,15 cd	404,85 cd		403,65 B
	Com Probiótico	397,17 d	407,45 bcd		
CV= 5,15		423,91	423,34		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	510,52 abcd	524,66 abc	495,64	518,56
	Com Probiótico	537,53 ab	501,49 abcd	516,66	
Com Jejum	Sem Probiótico	485,01 bcd	462,36 d		593,71
	Com Probiótico	560,86 a	466,60 cd		
CV= 8,11		523,49 x	488,79 y		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	18,18 b	18,18 b	19,88	22,15
	Com Probiótico	24,99 ab	27,27 a	23,40	
Com Jejum	Sem Probiótico	20,45 ab	22,72 ab		21,13
	Com Probiótico	20,90 ab	20,45 ab		
CV= 11,63		21,13	22,15		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	1,255 b	1,275 b	1,271	1,260
	Com Probiótico	1,262 b	1,247 b	1,320	
Com Jejum	Sem Probiótico	1,290 b	1,267 b		1,332
	Com Probiótico	1,527 a	1,245 b		
CV= 8,15		1,333	1,258		

a, b, c, d; A, B; x, y - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Embora não detectada diferença significativa entre aves que passaram por jejum e aves alimentadas durante as 30 horas iniciais, os resultados apresentados mostram maior consumo de ração e discreta redução da conversão alimentar para pintos que foram submetidos a jejum. A relação de peso médio dos

pintos do tratamento com jejum em relação ao peso médio dos pintos controle aumentou significativamente dos sete para os 14 dias, passando de 84,5% (142,81g/168,84g) para 90,9% (403,65g/443,60g), parecendo haver um efeito de ganho compensatório nas aves estressadas no início do experimento.

O uso do probiótico não influenciou nas variáveis peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar aos 14 dias. Já ao observar os efeitos do desafio por *Salmonella Enteritidis*, verificou-se que pintos infectados ingeriram menor quantidade de ração durante este período de estudo ( $P<0,05$ ), apesar de não haver diferença significativa para peso médio ou mesmo conversão alimentar. Os resultados de peso médio, consumo de ração, mortalidade e conversão alimentar das aves aos 21 dias de vida estão apresentados na Tabela 22.

**TABELA 22**– Peso médio (PM), consumo de ração (CRM), mortalidade (MORT) e conversão alimentar (CA) de frangos recebendo ou não probiótico, jejum e desafio por *Salmonella Enteritidis* aos 21 dias de vida

<b>Peso médio (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	761,55 c	826,47 a	799,29	827,89 A
	Com Probiótico	826,22 ab	861,30 a	821,92	
Com Jejum	Sem Probiótico	742,32 c	830,82 ab		793,33 B
	Com Probiótico	780,12 bc	820,02 ab		
CV= 4,46		777,56 y	843,66 x		
<b>Consumo de ração (g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	1080,27 bc	1214,25 a	1114,21 w	1162,93 A
	Com Probiótico	1114,25 b	1242,92 a	1154,45 z	
Com Jejum	Sem Probiótico	1033,32 c	1128,97 b		1105,73 B
	Com Probiótico	1132,25 b	1128,37 b		
CV= 4,16		1090,03 y	1178,63 x		
<b>Mortalidade (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	27,30 b	29,57 ab	29,57	32,98
	Com Probiótico	36,40 ab	38,65 a	34,28	
Com Jejum	Sem Probiótico	25,57 ab	31,85 ab		30,88
	Com Probiótico	32,52 ab	29,57 ab		
CV= 11,80		31,45	32,41		
<b>Conversão alimentar (g/g)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem Probiótico	1,337 ab	1,350 ab	1,324	1,308
	Com Probiótico	1,245 b	1,300 ab	1,311	
Com Jejum	Sem Probiótico	1,310 ab	1,300 ab		1,328
	Com Probiótico	1,397 a	1,305 ab		
CV= 6,47		1,322	1,313		

a, b, c, d; A, B; x, y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Como verificado aos sete e 14 dias, aos 21 dias as aves não superaram o jejum submetido após a eclosão, notando-se que o fator jejum determinou diferenças nas variáveis de desempenho influenciando negativamente ( $P<0,05$ ) o peso médio e o consumo de ração até os 21 dias de vida. Entretanto a relação peso médio das aves que passaram pelo jejum sobre o peso médio das aves que não foram submetidas a jejum (793,33g/ 827,89g) aumentou novamente como havia ocorrido na pesagem anterior, passando de 90,9% (14 dias) para 95,8% aos 21 dias.

Maior consumo de ração ( $P<0,05$ ) foi observado nas aves que receberam o probiótico como tratamento, mas não foi observada diferença estatística para peso médio das aves. Os probióticos necessitam de substrato para sobreviverem e colonizarem o trato gastrintestinal, o que parece ter levado ao maior consumo de ração em pintos que receberam a cultura de microrganismos (FULLER, 1989).

BERCHIERE JUNIOR (2000) cita que as salmonelas paratípicas podem não prejudicar o desempenho das aves. Entretanto, para peso médio e consumo de ração em aves infectadas, os resultados vão além do proposto por este autor. Aves que tiveram *Salmonella Enteritidis* como inóculo no primeiro dia de vida mostraram maior peso médio e consumo de ração quando comparadas às aves controle.

A mortalidade tanto para aves controle quanto para aves infectadas foi semelhante durante todo período experimental não havendo diferença significativa entre os tratamentos.

Os valores das probabilidades para os fatores estudados e suas possíveis interações para as variáveis de biometria de órgãos estão apresentados na Tabela 23. Os resultados das morfometrias de órgãos das aves estão dispostos nas Tabelas 24, 25, 26 e 27.

Poucas interações foram encontradas entre os fatores salmonela, probiótico e jejum para as variáveis de medidas de órgãos realizadas aos quatro, sete, 14 e 21 dias, o que permite discutir os resultados baseados nos efeitos dos fatores individualmente.

TABELA 23 - Valores de P para as variáveis de medidas biométricas de órgãos das aves realizadas aos quatro, sete, 14 e 21 dias

Órgão	sexo	salm	prob	jejum	salm* prob	salm* jejum	prob* jejum	salm* prob* jejum
<b>4 dias</b>								
Eso+pa**	0,4853	0,5543	0,3511	0,0140	0,0411	0,8809	0,6030	0,3572
Pro+mo	0,4161	0,0477	0,9665	0,1872	0,5739	0,4355	0,1902	0,6101
Pdel	0,1853	0,0726	0,0858	0,4508	0,4045	0,2310	0,9126	0,9733
Cdel	0,9791	0,0008	0,6200	0,0173	0,0479	0,6952	0,0505	0,6384
Gros	0,8838	0,5602	0,6065	0,7333	0,8684	0,2530	0,4615	0,9844
Fig	0,1335	0,4955	0,2207	0,2074	0,6959	0,5990	0,9393	0,1528
Baço	0,3691	0,0049	0,0020	0,0557	0,0557	0,8562	0,0151	0,3691
Cor	0,2123	0,6568	0,8587	0,4012	0,0813	0,8066	0,1830	0,3112
Bursa	0,0994	0,3088	0,1322	0,1734	0,2436	0,3088	1,0000	0,4431
SG	0,5082	<,0001	0,0422	0,6524	0,0953	0,6355	0,0001	0,0002
<b>7 dias</b>								
Eso+pa	0,9295	0,5505	0,8061	0,2417	0,2493	0,3859	0,8213	0,6173
Pro+mo	0,1223	0,0043	0,0094	0,0458	0,5541	0,7998	0,2770	0,6582
Pdel	0,2575	0,0007	0,0166	0,0712	0,0283	0,2398	0,3165	0,0009
Cdel	0,1919	0,5167	0,4128	0,2522	0,6337	0,0868	0,6884	0,2522
Gros	0,1201	0,5029	0,8266	0,0479	0,7426	0,6505	0,1133	0,2598
Fig	0,0654	0,6620	0,3017	0,2334	0,1595	0,1017	0,1881	0,2603
Baço	0,5383	0,0516	0,5974	0,8599	0,5383	0,5383	0,5974	0,6596
Cor	0,6725	0,4087	0,3054	0,5703	0,6103	0,7593	0,8954	0,4591
Bursa	0,5662	0,7016	0,8982	0,2563	0,2830	0,9490	0,9490	0,7016
SG	0,3065	0,2407	0,8386	0,5324	0,4118	0,8294	0,2545	0,3438
<b>14 dias</b>								
Eso+pa	0,2886	0,0099	0,3152	0,3434	0,5872	0,6701	0,7352	0,1796
Pro+mo	0,9862	0,9587	0,7693	0,1109	0,9862	0,5473	0,7693	0,5702
Pdel	0,2563	0,0396	0,6790	0,7016	0,0277	0,0321	0,5922	0,7942
Cdel	0,6929	0,9002	0,8698	0,0402	0,8546	0,2074	0,5449	0,4603
Gros	0,9282	0,5302	0,6532	0,1853	0,1853	0,1353	0,2487	0,4210
Fig	0,8935	0,5422	0,6067	0,5339	0,8087	0,1871	0,8384	0,4585
Baço	0,4785	0,8694	0,2151	0,4143	0,8694	0,1216	0,6226	0,7842
Cor	0,8765	0,6575	0,8765	0,4022	0,8765	0,7560	0,2292	0,6104
Bursa	0,9233	0,3900	0,0174	0,2183	0,5024	0,5865	0,1408	0,7244
<b>21 dias</b>								
Eso+pa	0,6187	0,0001	0,7182	0,7440	0,2048	0,4620	0,4417	0,5714
Pro+mo	0,1136	0,3971	0,2135	0,6535	0,4110	0,7025	0,0002	0,2380
Pdel	0,4939	0,8363	0,0190	0,8213	0,2072	0,7259	0,0221	0,6213
Cdel	0,8266	0,2901	0,7744	0,9361	0,5310	0,9787	0,6811	0,1696
Gros	0,6234	0,6590	0,7077	0,3026	0,4030	0,1824	0,4311	0,3421
Fig	0,9212	0,0056	0,0537	0,9212	0,2102	0,5543	0,2779	0,3224
Cor	0,1204	0,0015	0,2718	0,7636	0,7636	0,3867	0,4726	0,2474
Baço	0,1595	0,9454	0,1595	0,6325	0,7324	0,2014	0,7324	0,5394
Bursa	0,2315	0,3313	0,3854	0,3919	0,4682	0,9712	0,7121	0,5893

\*\* Pesos de Eso+pa (esôfago e papo), Pro+mo (proventrículo e moela), Pdel (intestino delgado), Cdel (comprimento de intestino delgado), Gros (intestino grosso), Fig (fígado), Cor (coração), SG (saco da gema);

Na necropsia realizada aos quatro dias (Tabela 24), pode-se observar que aves submetidas a jejum tiveram maior peso relativo de esôfago e papo e menor comprimento de intestino sem haver diferença para peso dos intestinos. MAIORKA et al. (2003) verificaram diferenças nas dimensões de órgãos já 24 horas após o jejum prévio ao alojamento.

TABELA 24 - Biometria de órgãos de aves aos quatro dias de vida

<b>Esôfago + inglúvio (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,58 bc	1,66 abc	1,78	1,59 B
	Com probiótico	1,66 abc	1,49 c	1,68	
Com Jejum	Sem probiótico	1,82 abc	2,07 a		1,87 A
	Com probiótico	1,99 ab	1,59 bc		
CV= 16,80		1,76	1,70		
<b>Proventrículo + moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	9,67 ab	10,20 ab	9,94	9,66
	Com probiótico	9,13 b	9,63 ab	9,92	
Com Jejum	Sem probiótico	9,15 b	10,73 ab		10,20
	Com probiótico	10,10 ab	10,82 a		
CV= 11,32		9,51 y	10,34 x		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	7,03 b	8,05 ab	7,43	7,76
	Com probiótico	7,68 ab	8,28 a	7,89	
Com Jejum	Sem probiótico	7,12 b	7,51 ab		7,56
	Com probiótico	7,84 ab	7,78 ab		
CV= 9,56		7,42	7,90		
<b>Comprimento int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	78,25 a	74,25 ab	70,78	73,21 A
	Com probiótico	78,25 a	62,12 c	69,59	
Com Jejum	Sem probiótico	67,50 bc	63,12 c		67,15 B
	Com probiótico	75,00 ab	63,00 c		
CV= 9,52		74,75 x	65,62 y		
<b>Peso intestino grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,92	1,87	1,87	1,88
	Com probiótico	1,91	1,82	1,93	
Com Jejum	Sem probiótico	1,72	1,96		1,92
	Com probiótico	1,90	2,11		
CV= 18,83		1,86	1,94		
<b>Fígado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	4,48	4,09	4,44	4,43
	Com probiótico	4,36	4,86	4,73	
Com Jejum	Sem probiótico	4,33	4,82		4,73
	Com probiótico	4,85	4,88		
CV= 14,02		4,50	4,66		

a, b, c, d; A, B; x, y, z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05);

TABELA 24 - Biometria de órgãos de aves aos quatro dias de vida (continuação)

<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,00	0,95	0,96	0,93
	Com probiótico	0,87	0,91	0,95	
Com Jejum	Sem probiótico	1,05	0,85		0,98
	Com probiótico	0,95	1,07		
CV= 16,35		0,97	0,94		
<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,07 bc	0,07 abc	0,07 w	0,10
	Com probiótico	0,10 abc	0,16 a	0,11 z	
Com Jejum	Sem probiótico	0,07 c	0,09 abc		0,08
	Com probiótico	0,06 c	0,11 ab		
CV= 30,17		0,08 y	0,11 x		
<b>Bursa (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,24 a	0,20 ab	0,20	0,20
	Com probiótico	0,21 ab	0,15 ab	0,16	
Com Jejum	Sem probiótico	0,16 ab	0,21 ab		0,16
	Com probiótico	0,17 ab	0,12 b		
CV= 36,85		0,19	0,17		
<b>Saco da gema (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,26 c	0,58 c	1,86 B	2,74
	Com probiótico	0,73 c	9,39 a	3,32 A	
Com Jejum	Sem probiótico	0,47 c	6,12 b		2,43
	Com probiótico	0,53 c	2,58 c		
CV= 74,00		0,51	4,67		

a, b, c, d; A, B; x, y, z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Esses resultados sugerem que no inicio da vida do frango há a prioridade de desenvolvimento de órgãos relativos à digestão para o melhor aproveitamento dos alimentos e desenvolvimento, e por este motivo, o jejum pode não ter prejudicado o desenvolvimento dos órgãos digestórios.

O alto coeficiente de variação pode ser o responsável por não haver diferença significativa entre os pesos de saco da gema de aves infectadas e aves controle. Foi detectado maior peso de saco da gema para pintos do tratamento que recebeu *Salmonella Enteritidis*. O maior peso nessas aves parece ser em decorrência da bactéria ter promovido invasão e infecção do órgão aumentando a persistência do conteúdo no interior do órgão.

O probiótico inoculado favoreceu o maior peso relativo de baço e saco da gema apresentando diferença significativa nesses órgãos aos quatro dias de vida.

A inoculação de *Salmonella Enteritidis* exerceu influência ( $P<0,05$ ) no proventrículo e moela e no baço refletindo em maior peso desses órgãos, em

contrapartida, aves infectadas tiveram menor comprimento de intestino delgado ( $P<0,05$ ).

Aos sete dias de vida, Tabela 25, o jejum promoveu maior peso relativo ( $P<0,05$ ) de proventrículo e moela e do intestino grosso nas aves avaliadas.

TABELA 25 - Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves aos sete dias

<b>Esôfago + inglúvio (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,14	1,16	1,19	1,16
	Com probiótico	1,21	1,15	1,21	
Com Jejum	Sem probiótico	1,14	1,34		1,24
	Com probiótico	1,25	1,23		
CV= 14,76		1,18	1,22		
<b>Proventrículo + moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	6,49 c	7,37 bc	7,28 w	7,36 B
	Com probiótico	7,60 ab	8,01 ab	7,91 z	
Com Jejum	Sem probiótico	7,25 bc	8,04 ab		7,83 A
	Com probiótico	7,66 ab	8,39 a		
CV= 8,24		7,25 y	7,95 x		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	5,97 d	7,82 ab	6,96 w	7,02
	Com probiótico	7,24 bc	7,06 bc	7,39 z	
Com Jejum	Sem probiótico	6,94 bc	7,14 bc		7,33
	Com probiótico	7,28 bc	7,97 a		
CV= 6,46		6,85 y	7,50 x		
<b>Comprimento int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	80,10 ab	87,25 ab	82,80	85,08
	Com probiótico	84,50 ab	88,50 a	84,70	
Com Jejum	Sem probiótico	85,10 ab	78,75 b		82,41
	Com probiótico	82,30 ab	83,50 ab		
CV= 7,69		83,00	84,50		
<b>Peso intestino grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,29 b	1,32 ab	1,45	1,36 B
	Com probiótico	1,52 ab	1,31 b	1,43	
Com Jejum	Sem probiótico	1,64 a	1,56 ab		1,52 A
	Com probiótico	1,43 ab	1,47 ab		
CV= 15,45		1,47	1,41		
<b>Fígado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	3,30 b	4,15 ab	3,96	3,94
	Com probiótico	4,20 ab	4,12 ab	4,14	
Com Jejum	Sem probiótico	4,27 ab	4,10 ab		4,16
	Com probiótico	4,27 ab	3,99 ab		
CV= 12,50		4,01	4,09		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,93	0,92	0,93	0,94
	Com probiótico	0,91	1,02	0,98	
Com Jejum	Sem probiótico	0,93	0,96		0,97
	Com probiótico	0,99	1,00		
CV= 12,45		0,94	0,97		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

TABELA 25 - Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves aos sete dias (continuação)

<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,09	0,12	0,11	0,11
	Com probiótico	0,11	0,13	0,11	
Com Jejum	Sem probiótico	0,08	0,14		0,11
	Com probiótico	0,10	0,12		
CV= 34,44		0,10	0,12		
<b>Bursa (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,20	0,17	0,17	0,19
	Com probiótico	0,18	0,20	0,18	
Com Jejum	Sem probiótico	0,17	0,15		0,16
	Com probiótico	0,16	0,17		
CV= 30,47		0,18	0,17		
<b>Saco da gema (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,05	0,56	0,52	0,58
	Com probiótico	0,57	0,16	0,45	
Com Jejum	Sem probiótico	0,10	0,36		0,38
	Com probiótico	0,98	0,10		
CV= 182,83		0,67	0,29		

a, b, c, d; A, B; X, Y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Aves oriundas de ovos inoculados com probiótico tiveram maiores pesos relativos, com diferença significativa, de proventrículo com moela e de Intestino delgado.

Em aves infectadas, houve maior peso do proventrículo com moela e maior peso de intestino delgado ( $p<0,05$ ) quando comparado às aves controle.

Aos 14 dias, o jejum não exerceu influência significativa ( $P>0,05$ ) nos pesos relativos dos órgãos aferidos, entretanto, houve diferença estatística ( $P<0,05$ ) no comprimento do intestino delgado apresentando menor comprimento no órgão de aves submetidas a jejum.

Quando se avaliou o efeito do jejum, não foi detectada diferença significativa em peso de saco da gema. Neste experimento, apesar de não haver diferença significativa, o peso do saco da gema em aves submetidas ao jejum foi menor que em aves alimentadas. Esses resultados corroboram com NOY et al. (1996) que afirmaram que a excreção do conteúdo da gema para o lúmen intestinal poderia ser aumentado pela maior atividade intestinal em pintos.

TABELA 26- Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 14 dias

<b>Esôfago + inglúvio (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,83 ab	0,77 ab	0,77	0,81
	Com probiótico	0,94 a	0,72 b	0,82	
Com Jejum	Sem probiótico	0,81 ab	0,68 ab		0,77
	Com probiótico	0,84 ab	0,77 b		
CV= 14,86		0,85 x	0,74 y		
<b>Proventrículo + moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	4,75	4,75	4,99	5,75
	Com probiótico	4,95	4,55	5,10	
Com Jejum	Sem probiótico	5,22	5,25		5,34
	Com probiótico	5,22	5,67		
CV= 20,06		5,03	5,05		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	5,71 ab	5,34	5,54	5,62
	Com probiótico	6,43 a	5,01 b	5,63	
Com Jejum	Sem probiótico	5,34 b	5,78 ab		5,55
	Com probiótico	5,73 ab	5,33 b		
CV= 10,18		5,82 x	5,36 y		
<b>Comprimento Int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	100,50 ab	99,75 ab	97,62	101,37 A
	Com probiótico	106,00 a	99,25 ab	98,15	
Com Jejum	Sem probiótico	93,75 ab	96,50 ab		94,40 B
	Com probiótico	90,50 b	96,87 ab		
CV= 9,25		97,67	98,09		
<b>Peso intestino grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	1,22 ab	1,22 ab	1,13	1,20
	Com probiótico	1,02 b	1,32 a	1,16	
Com Jejum	Sem probiótico	1,10 ab	1,00 b		1,10
	Com probiótico	1,17 ab	1,15 ab		
CV= 16,83		1,13	1,17		
<b>Fígado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	3,42	3,38	3,44	3,43
	Com probiótico	2,58	3,34	3,54	
Com Jejum	Sem probiótico	3,39	3,58		3,55
	Com probiótico	3,34	3,91		
CV= 15,68		3,43	3,55		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,80	0,83	0,80	0,78
	Com probiótico	0,76	0,75	0,81	
Com Jejum	Sem probiótico	0,79	0,80		0,83
	Com probiótico	0,83	0,91		
CV= 19,37		0,80	0,82		
<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,11	0,09	0,10	0,10
	Com probiótico	0,11	0,10	0,11	
Com Jejum	Sem probiótico	0,09	0,11		0,11
	Com probiótico	0,10	0,13		
CV= 28,91		0,10	0,11		

a, b, c, d; A, B; x, y, z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

TABELA 26 - Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 14 dias (continuação)

Bursa (%)		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,27 a	0,27 a	0,25 z	0,23
	Com probiótico	0,19 b	0,20 ab	0,20 w	
Com Jejum	Sem probiótico	0,22 ab	0,22 ab		0,21
	Com probiótico	0,18 b	0,22 ab		
CV= 24,10		0,21	0,23		

a, b, c, d; A, B; x, y, z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Aves que receberam o probiótico tiveram menor peso de bursa ( $P<0,05$ ) quando comparado às que não receberam o produto *in ovo*. Para os demais órgãos não foi observada diferença significativa nos pesos para o uso da cultura de microrganismos. Observou-se ainda menores pesos relativos de esôfago junto ao inglúvio e intestino delgado em aves infectadas ( $P<0,05$ ).

Conforme descrito na Tabela 27, aos 21 dias, os pesos dos órgãos foram semelhantes nas aves que foram ou não submetidas a jejum, não detectando diferença estatística nas médias obtidas.

Houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) para peso de intestino delgado sendo que aves que receberam o probiótico *in ovo* tiveram maior peso aos 21 dias de vida. O probiótico não influenciou nos demais órgãos avaliados.

Para aves infectadas, foram observados menores pesos para esôfago juntamente ao inglúvio e maiores pesos para fígado e coração ( $P<0,05$ ). A *Salmonella Enteritidis* parece ter proporcionado esse maior peso nos órgãos circulatórios por haver processo infeccioso sistêmico nas aves, fato esse que pode ser explicado pela possibilidade de detecção da bactéria na corrente circulatória ou mesmo em órgãos como fígado, coração e baço.

Nas Tabelas 28, 29, 30 e 31 estão apresentados os índices percentuais de isolamentos de *Salmonella* sp. das amostras de conteúdo de papo, ceco e saco da gema coletadas com 96 horas, sete, 14 e 21 dias.

TABELA 27 - Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 21 dias de vida.

<b>Esôfago+papo (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,82 a	0,65 bc	0,71	0,71
	Com probiótico	0,75 ab	0,64 bc	0,70	
Com Jejum	Sem probiótico	0,82 a	0,57 c		0,70
	Com probiótico	0,77 ab	0,65 bc		
CV= 14,26		0,79 x	0,63 y		
<b>Proventrículo+moela (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	3,97 ab	4,09 a	3,67	3,80
	Com probiótico	3,81 abc	3,33 c	3,86	
Com Jejum	Sem probiótico	3,38 bc	3,25 c		3,73
	Com probiótico	4,16 a	4,14 a		
CV= 11,02		3,83	3,70		
<b>Peso intestino delgado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	4,17 ab	3,95 ab	3,92 w	4,06
	Com probiótico	3,94 ab	4,19 ab	4,24 z	
Com Jejum	Sem probiótico	3,86 b	3,69 b		4,09
	Com probiótico	4,40 a	4,43 a		
CV= 8,90		4,09	4,06		
<b>Comprimento int. delgado (cm)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	114,97	125,95	119,88	119,23
	Com probiótico	119,65	116,37	118,87	
Com Jejum	Sem probiótico	118,82	119,77		119,51
	Com probiótico	116,55	122,92		
CV= 8,21		117,50	121,25		
<b>Peso intestino Grosso (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,96	0,88	0,93	0,90
	Com probiótico	0,92	0,86	0,95	
Com Jejum	Sem probiótico	0,80	1,07		0,98
	Com probiótico	1,02	1,02		
CV= 22,18		0,92	0,96		
<b>Fígado (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	2,24 bc	2,77 a	2,44	2,56
	Com probiótico	2,60 abc	2,62 ab	2,67	
Com Jejum	Sem probiótico	2,15 c	2,59 abc		2,55
	Com probiótico	2,53 abc	2,91 a		
CV= 12,44		2,38 y	2,72 x		
<b>Coração (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,64 bc	0,79 ab	0,73	0,70
	Com probiótico	0,59 c	0,81 ab	0,69	
Com Jejum	Sem probiótico	0,67 bc	0,84 a		0,72
	Com probiótico	0,65 bc	0,70 abc		
CV= 16,26		0,64 y	0,78 x		

a, b, c, d; x, y; z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

\* Eso+pa (esôfago e papo), Pro+mo (proventrículo e moela), Pdel (peso de intestino delgado), Cdel (comprimento de intestino delgado), Gros (peso de intestino grosso), Fig (fígado), Cor (coração), SG (saco da gema);

TABELA 27 - Médias dos pesos dos órgãos relativos de aves com 21 dias de vida (continuação)

<b>Baço (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,09	0,08	0,09	0,09
	Com probiótico	0,10	0,09	0,10	
Com Jejum	Sem probiótico	0,09	0,09		0,09
	Com probiótico	0,09	0,11		
CV= 26,27		0,09	0,09		
<b>Bursa (%)</b>		Controle	Infectado	Probiótico	Jejum
Sem Jejum	Sem probiótico	0,28	0,22	0,26	0,26
	Com probiótico	0,28	0,28	0,29	
Com Jejum	Sem probiótico	0,30	0,26		0,29
	Com probiótico	0,30	0,28		
CV= 26,71		0,29	0,26		

a, b, c, d; x, y, z, w - médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ );

Diferentemente do que foi observado no experimento um, nas análises realizadas com 96 horas pôde ser detectados menores índices de positividade para o microrganismo pesquisado (Tabela 28).

TABELA 28 - Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de conteúdo de papo, ceco e saco da gema com 96 horas

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco Gema	Total
Sem Probiótico/ sem Jejum	3/4 (75%)	2/4 (50%)	1/4 (25%)	6/12 (50%)
Sem Probiótico/ com Jejum	3/4 (75%)	3/4 (75%)	0/4 (0%)	6/12 (50%)
Com Probiótico/ sem Jejum	1/4 (25%)	3/4 (75%)	0/4 (0%)	4/12 (33%)
Com Probiótico/ com Jejum	3/4 (75%)	1/4 (25%)	1/4 (25%)	5/12 (41%)
Total	10/16 (62%)	9/16 (56 %)	2/16 (12 %)	21/48 (43%)

O probiótico exerceu efeito positivo beneficiando as aves por apresentarem menores índices de isolamentos nos tratamentos onde se utilizou da inoculação de cultura de exclusão competitiva (33 e 41% contra 50 e 50%).

De forma geral, sem a utilização do probiótico, o jejum não influenciou os resultados obtidos. Porém, quando as aves receberam o probiótico *in ovo*, o jejum influenciou negativamente, encontrando maior percentual de positivos.

Os menores percentuais na pesquisa de *Salmonella* sp. foram verificados para conteúdo de saco da gema e os maiores foram observados em conteúdo de papo, o que já era esperado nessas primeiras avaliações, uma vez que o papo foi a porta de entrada da bactéria no organismo das aves.

Os resultados das análises microbiológicas aos sete dias mostram pronunciada redução da presença da *Salmonella* sp. em conteúdo de papo, sendo esta verificada somente em uma ave que não recebeu o probiótico, conforme mostra a Tabela 29. Foi observado ainda alto percentual de positividade para conteúdo de ceco, órgão considerado de eleição para colonização e consequentemente para pesquisa da bactéria.

TABELA 29 - Freqüência de isolamento de *Salmonella* Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos sete dias (Experimento II)

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco da Gema	Total
Sem Probiótico/ sem Jejum	1/4 (25%)	2/4 (50%)	1/3 (33%)	4/11 (36%)
Sem Probiótico/ com Jejum	0/4 (0%)	4/4 (100%)	2/4 (50%)	6/12 (50%)
Com Probiótico/ sem Jejum	0/4 (0%)	1/4 (25%)	1/3 (33%)	2/11(18%)
Com Probiótico/ com Jejum	0/4 (0%)	4/4 (100%)	1/4 (25%)	5/12 (42%)
Total	1/16 (6%)	11/16 (69%)	5/14 (36%)	17/46 (37%)

Independente do probiótico, as aves que foram submetidas a jejum tiveram, de um modo geral, elevados percentuais do patógeno nos órgãos pesquisados. Quando as aves foram alimentadas mais rapidamente após o nascimento, essas tiveram maiores condições de eliminar a bactéria do organismo. Esses resultados corroboram com os resultados verificados por HINTON et al. (2000) que suplementaram frangos com 7,5% de glicose e verificaram redução da presença de *Salmonella* Thiphymurium do inglúvio de aves desafiadas. O alimento fornecido mais precocemente pode ter atuado como a glicose nos trabalhos desenvolvidos pelo autor, o que promoveu a proliferação de bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta como o ácido lático, que além de minimizar o estresse da restrição alimentar, funciona reduzindo o pH do meio deixando um ambiente menos propício à colonização pela *Salmonella* Enteritidis.

Esses resultados microbiológicos encontram suporte nos dados de desempenho, onde podem ser verificados que aves em jejum tiveram não somente menor peso médio mas também pior conversão alimentar que aves não submetidas ao jejum alimentar.

A cultura de exclusão competitiva inoculada *in ovo* parece ter promovido efeito benéfico sobre as aves, já que *Salmonella* Enteritidis inoculada foi

detectada em menor proporção nesses tratamentos que receberam o probiótico. Esses resultados confirmam a ação benéfica promovida pelo produto de cultura múltipla como anteriormente descrito por vários autores (NURMI & RANTALA, 1973; COX et al., 1992; TEO & TAN, 2005).

TABELA 30 - Freqüência de isolamento de *Salmonella* Enteritidis de conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 14 dias (Experimento II)

Tratamentos	Papo	Ceco	Saco da Gema	Total
Sem Probiótico/ sem Jejum	0/4 (0%)	2/4 (50%)	0/1 (0%)	2/9 (22%)
Sem Probiótico/ com Jejum	1/4 (25%)	4/4 (100%)	0/1 (0%)	5/9 (55%)
Com Probiótico/ sem Jejum	3/4 (75%)	4/4 (100%)	1/2 (50%)	8/10 (80%)
Com Probiótico/ com Jejum	2/4 (50%)	4/4 (100%)	2/2 (100%)	8/10 (80%)
Total	6/16 (37%)	14/16 (87%)	3/6 (50%)	23/38 (60%)

Aos 14 dias, os resultados das análises dos órgãos revelaram maiores índices de positividade, mostrando que houve maior colonização pelo microrganismo inoculado. Os valores absolutos de saco da gema foram reduzidos em função da absorção dos órgãos devido à idade das aves. O percentual de isolamento de *Salmonella* sp. no papo foi o menor dentre os órgãos pesquisados.

Nas aves que não receberam probiótico foi demonstrado uma tendência de maior isolamento de *Salmonella* Enteritidis naquelas submetidas ao jejum após eclosão. Já entre aves que receberam o probiótico, com ou sem o jejum, não houve diferença estatística significativa de isolamento de *Salmonella* sp. contando com 80% de amostras positivas para ambos tratamentos. O probiótico parece não ter exercido efeito benéfico sobre as aves infectadas com *Salmonella* Enteritidis ao analisar os órgãos dessas com 14 dias.

As aves do tratamento sem probiótico que foram alimentadas mais rápido tiveram o menor índice na pesquisa do microrganismo (22%) dentre os tratamentos.

Assim como ocorreu no experimento um, nesse ensaio pôde ser verificado que a freqüência de isolamentos de *Salmonella* Enteritidis foi inversamente proporcional à idade da ave, ou seja, quanto mais velho o frango menor a chance da ave estar contaminada. Este fato foi observado para todos os

órgãos, apesar da maior redução de contaminação ter sido verificada em conteúdo de papo.

TABELA 31- Freqüência de isolamento de *Salmonella Enteritidis* de conteúdo de papo, ceco e saco da gema aos 21 dias (Experimento II)

Tratamentos	Papo	Ceco	Total
Sem Probiótico/ sem Jejum	0/4 (0%)	1/4 (25%)	1/8 (12,5%)
Sem Probiótico/ com Jejum	0/4 (0%)	2/4 (50%)	2/8 (25%)
Com Probiótico/ sem Jejum	0/4 (0%)	3/4 (75%)	3/8 (37,5)
Com Probiótico/ com Jejum	1/4 (25%)	3/4 (75%)	4/8 (50%)
Total	1/16 (6,2%)	9/16 (56,2%)	10/32 (31,2%)

Assim como ocorreu na análise realizada aos 14 dias, aos 21 dias tanto o jejum quanto o uso do probiótico influenciaram negativamente os resultados das pesquisas da bactéria patogênica no papo e ceco. Não houve quantidade suficiente de saco da gema para ser analisado aos 21 dias.

#### 4 CONCLUSÕES

A *Salmonella Enteritidis*, independente do uso do probiótico, tende a ser eliminada do organismo da ave com o avançar da idade. Apesar da infecção causada por *Salmonella Enteritidis* não ter prejudicado o desempenho ou mesmo o desenvolvimento de órgãos das aves, foi verificado nesse grupo de pintos o maior tempo de persistência do saco da gema.

O probiótico inoculado *in ovo* não foi capaz de reduzir a contaminação por *Salmonella Enteritidis* nos frangos. Quanto à linhagem, pintos ISA Label não foram considerados mais eficientes em eliminar a bactéria do organismo quando comparados aos pintos da linhagem Hubbard.

O jejum promoveu efeito negativo por desencadear pior desempenho dos pintos, propiciando meios favoráveis à colonização e persistência da *Salmonella Enteritidis* no organismo. Dentre os órgãos analisados, os cecos apresentaram melhores condições para a persistência da bactéria, tendo maior frequência de recuperação do microrganismo que os demais órgãos avaliados.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. A. **Inoculação de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar *Enteritidis* fagotipo 4 em ovos embrionados de duas linhagens de frango de corte.** Goiânia, 2005. 74p. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás.

BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V. Efeito do intervalo entre o nascimento e o alojamento de pintos sobre o desempenho dos frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.2, p. 191-194, abril, 1998.

BARNES, E. M.; IMPEY, C. S.; COOPER, D. M. Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chicks. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 33, p.2426, 1980.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**, FACTA: Campinas, p. 185-196, 2000.

BRADSHAW, J. G., SHAH, D.B., FORNEY, E., MADDEN, J. H. Growth of *Salmonella Enteritidis* in shell eggs from normal and seropositive hens. **Journal of Food Protection**, v.53, n.12.,p 651-69, 1990.

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; BLANKENSHIP, L. C.; GILDERSLEEVE, R. P. Research Note: In ovo administration of a competitive exclusion culture treatment to broiler embryos. **Poultry Science**, n.71, p. 1781-1784, 1992.

FERKET, P.; OLIVEIRA, J.; GHANE, A.; UNI, Z. Effect of in ovo feeding solution osmolality on hatching turkeys. **Abstracts of papers, International Poultry Annual meeting congress**, p 118, 2005.

FERNÁNDEZ, A.; LARA, C.; LOSTE, A.; CALVO, S.; MARCA, M.C. Control of of *Salmonella enteritidis* phage type 4 experimental infection by fosfomycin in newly hatched chicks. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**. v.24, p.207-216, 2001.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, n.66 p. 365 – 378, 1989.

GEORGIA POULTRY LABORATORY. **Monitoring and detection of *Salmonella* in poultry and poultry environments.** Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997.293p. [Workshop].

GONZALES, E.; KONDO, N.; SALDANHA, E. S. P. B.; LODDY, M. M.; CAREGHI, C.; DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, v.82, p.1250-1256, 2003.

GUSTIN, P. C. Manejo dos pintos no incubatório, expedição, transporte e alojamento na granja. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**, FACTA: Campinas, p.199- 266, 2003.

HINTON JUNIOR, A.; BUHR, R. J.; INGRAM, D. Reduction of *Salmonella* in the crop of broiler chickens subjected to feed withdrawal. **Poultry Science**, v.79, p. 1566-1570, 2000.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A. A.; NAAS, I. A.; MACARI, M. **Produção de frangos de corte**. FACTA: Campinas, São Paulo, 2004, cap. 13, p.205-260, 2005.

JOCHEMSEN, P.; JEURISSEN, S. H. M. The localization and uptake of in ovo injected soluble and particulate substances in the chicken. **Poultry Science**, v.81, p.1811-1817, 2002.

LAURENTIZ, A. C. **Efeito do probiótico e alturas de cama sobre o desempenho de frangos de corte submetidos a diferentes temperaturas**. (Dissertação de mestrado), 2000, 79p, Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias de Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, 2000.

LEANDRO, N.S.M., OLIVEIRA, A.S., ANDRADE, M.A.; MORAES, D.M.C.; GONZALES, E. Avaliação do probiótico na ração sobre o desempenho de pintos de corte inoculados ou não com *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis. In: 40<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003.

LEANDRO, N. S. M.; OLIVEIRA, A. S.; ANDRADE, M. A.; STRINGHINI, J. H.; ANDRADE, L.; CHAVES, L. S.; SILVA, T. R. Efeito de probiótico inoculado via ovo sobre o desempenho e colonização do TGI por “*Salmonella enteritidis*” de pintos desafiados. In: 41<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: SBZ, 2004.

LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A. ROCA, R. O. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29 n.4, p.1124-1131, 2000.

MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; MORGULIS, M. S. F. A. Broiler adaptation to post-hatching period. **Ciência Rural**, v.36, n.2, mar-abr, p.701-708, 2006.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; DAHLKE, F.; BOLELI, I. C.; FURLAN, R. L.; MACARI, M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p.483-492, 2003.

MEAD, G. C. Prospects for ‘Competitive Exclusion” treatment to control *Salmonellas* and other foodborne pathogens in poultry. **The Veterinary Journal**, p.111-123, 159p., 2000.

MEAD, G. C., ADAMS, B. W. Some observations on the caecal microflora of the chick during the first two weeks of life. **British Poultry Science**, v. 16, p.169, 1975.

MILNER, K. C.; SHAFFER, M. F. Bacteriologic studies of experimental infections in chicks. **Journal of Infectious Diseases**, v.90, p 81, 1952.

NOY, Y.; SKLAN, D. Energy utilization in newly hatched chicks. **Poultry Science**, n.78, p. 1750-1756, 1999.

NOY, Y.; UNI, Z.; SKLAN, D. Routes of yolk utilisation in the newly-hatched chick. **British Poultry Science**, v.37, p. 987-996, 1996.

NRC, **Nutrient requirements of poultry**, 9 ed. Washington: National Academy of Science, National Research Council, 1994. 160 p.

NUNES, I., A. **Salmonella Enteritidis-fagotipos, susceptibilidade a drogas a antimicrobianas e epidemiologia molecular baseada na sonda complementar ao rRNA**. São Paulo, 1999. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências biomédicas da Universidade de São Paulo. 119p.

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

ROCHA, P. T. **Ocorrência de *Salmonella* sp. em granjas de integrações de frangos de corte no Estado de Goiás**. Goiânia, 2001. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. 57p.

SANTOS, I. I.; POLI, A. PADILHA, M. T. S. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum**, v. 26, n.1, p. 29-33, 2004.

TEO, A. Y. L.; TAN, H. M. Inhibition of *Clostridium perfringens* by a novel strain of *Bacillus subtilis* isolated from the gastrointestinal tracts of healthy chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n.8, p. 4185-4190, 2005.

TIMMERMAN, H. M.; KONING, C. J. M.; MULDER, L. ROMBOUTS, F. M. BEYNEN, A. C. Monostrain, multistain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy. **International Journal of Food Microbiology**, v.96, p.219-233, 2004.

TRALDI, A. B. **Probiótico no desempenho e carcaça de frangos de corte e nas características da cama reutilizada** (Dissertação de mestrado), 2005, 54p, Jaboticabal-SP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, 2005.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Development of small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. **British Poultry Science**, v.36, p. 63-71, 1995.

WIGLEY, P. Genetic resistance to *Salmonella* infection in domestic animals. **Research in Veterinary Science**, v. 76, p. 165-169, 2004.