

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FABRÍCIO IMPERATORI

**EFICÁCIA DE NÍVEIS DE UM *BLEND* DE ADITIVOS SOBRE O
DESEMPENHO E A SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE
DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FABRÍCIO IMPERATORI

**EFICÁCIA DE NÍVEIS DE UM *BLEND* DE ADITIVOS SOBRE O
DESEMPENHO E A SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE
DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora: Prof^ª. Dr.^ª. Jovanir Inês Müller Fernandes.

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Imperator, Fabrício
Eficácia de níveis de um blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente / Fabrício Imperator; orientadora Jovanir Inês Müller Fernandes. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.
129 p.

Tese (Doutorado Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2022.

1. Avicultura. 2. desafio entérico. 3. saúde intestinal.
I. Inês Müller Fernandes, Jovanir, orient. II. Título.

FABRÍCIO IMPERATORI

Eficácia de níveis de um *blend* de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Doutor em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Não-Ruminantes", APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:

Orientadora / Presidente – Prof.^a Dr.^a Jovanir Inês Muller Fernandes
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina

Membro – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof.^a Dr.^a Elis Regina de Moraes Garcia
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

Membro – Prof. Dr. Antônio Carlos Pedroso
Instituto Federal Catarinense (IFC) – *Campus* Concórdia

Membro – Prof. Dr. Fernando Rutz
Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Marechal Cândido Rondon, 10 de junho de 2022.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, Prof.^a Dr.^a Jovanir Inês Muller Fernandes, declaro como **ORIENTADORA** que presidi os trabalhos de defesa à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Tese do candidato **Fabrizio Imperatori**, aluno de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientadora**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que o candidato foi considerado **APROVADO** na banca realizada em 10/06/2022, com o trabalho intitulado **"Eficácia de níveis de um blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof.ª Dra. Jovanir Inês Muller Fernandes
Laboratório de Experimentação Avícola
Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina

Prof. Dr. Jovane Inês Muller
Laboratório de Zootecnia
UNIOESTE - Setor Palotina

Prof.^a Dr.^a Jovanir Inês Muller Fernandes – ORIENTADORA / PRESIDENTE
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina
Docente do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Unioeste

Modelo 2 – Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese do candidato **Fabrizio Imperatori**, aluno de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 10/06/2022, com o trabalho intitulado **"Eficácia de níveis de um blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Após o período de defesa, a banca decidiu pela aprovação do discente Fabrizio Imperatori. O discente terá que realizar as correções/sugestões para a entrega da versão final.

Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / Campus de Mal. Cândido Rondon
Centro de Ciências Agrárias



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.^a Dr.^a Elis Regina de Moraes Garcia**, declaro que **participo à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese do candidato **Fabricio Imperatori**, aluno de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 10/06/2022, com o trabalho intitulado **"Eficácia de níveis de blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Título alterado para: Eficácia de níveis de um *blend* de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente.

Prof.^a Dr.^a Elis Regina de Moraes Garcia
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE



Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Antonio Carlos Pedroso**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese do candidato **Fabício Imperatori**, aluno de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 10/06/2022, com o trabalho intitulado **"Eficácia de níveis de um blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Antonio Carlos Pedroso
Instituto Federal Catarinense (IFC) – *Campus Concórdia*



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DOUTORADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Fernando Rutz**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Tese do candidato **Fabrizio Imperatori**, aluno de Doutorado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizoo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 10/06/2022, com o trabalho intitulado **"Eficácia de níveis de um blend de aditivos sobre o desempenho e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Fernando Rutz
Universidade Federal de Pelotas

DEDICATÓRIA

Dedico, de modo especial, este trabalho à minha família e à minha
professora orientadora.

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda luz e proteção ontem, hoje e sempre.

Aos meus pais e familiares por todo apoio e incentivo.

À minha esposa Tatiana Demichei Imperatori por todo apoio, carinho e respeito.

Às minhas filhas, Isabella e Juliana, crianças incríveis, divertidas e animadas sempre dispostas a me acolherem com abraços apertados e lindos sorrisos.

À minha prof^a. Orientadora e incentivadora, Jovanir Inês Müller Fernandes, pelos ensinamentos, dedicação, apoio e orientação.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade e apoio.

A todos professores e mestres que contribuíram grandemente para chegarmos até aqui através de seus ensinamentos, amizades e diálogos.

Ao amigo Paulo Henrique Morsh, assistente do Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual do Paraná – Unioeste por sua ajuda e disponibilidade durante toda essa caminhada.

Aos dedicados alunos, colaboradores e amigos do LEA (Laboratório de Experimentação Avícola) – UFPR, *Campus* Palotina, muito obrigado por todo auxílio e dedicação durante a realização do experimento e das avaliações.

À empresa Alltech por incentivar e apoiar o desenvolvimento da pesquisa científica.

À Mariana Lemos de Moraes, colega e grande amiga, agradeço especialmente, pois o incentivo dela foi essencial para eu trilhar esse percurso!

A todos amigos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram nessa conquista.

EFICÁCIA DE NÍVEIS DE UM *BLEND* DE ADITIVOS SOBRE O DESEMPENHO E A SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE.

RESUMO: A manutenção de boa integridade e saúde intestinal são de suma importância para que os animais de produção possam ter condições de expressar o potencial genético. Para que seja possível dimensionar o impacto de diferentes variáveis envolvidas no contexto da produção de frangos de corte há a necessidade de aplicação de protocolos experimentais que sejam capazes de simular a realidade de campo possibilitando a avaliação precisa dos aditivos alimentares. Nesse sentido, objetivamos avaliar o desempenho, a morfologia e a capacidade regenerativa da mucosa intestinal bem como estudar respostas da microbiota intestinal e a resposta imune das aves alimentadas com um *blend* de aditivos composto por proteinato de zinco, levedura hidrolisada e butirato de sódio encapsulado (BSE) associado ou não ao uso de antibiótico melhorador de desempenho (AMD) de frangos de corte submetidos ou não a uma proposta de desafio entérico. Este estudo foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná – *campus* Palotina. Foram utilizados 3.936 pintos de corte, machos (Ross AP95[®]) sendo as aves alojadas sobre cama de maravalha, com água e ração *ad libitum* e divididas em um esquema fatorial 6 x 2 (Controle negativo (CN); Controle positivo (CP); CP + 1.0kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração; CN + 0.5kg; CN + 1.0kg; CN + 1.5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração *Vs* com e sem desafio entérico experimental), com 8 repetições por tratamento e 41 aves cada. Aos 14 dias de idade, as aves dos grupos desafiados receberam inoculação no inglúvio de vacina para coccidiose contendo 20 vezes a dose recomendada pelo fabricante. Dois dias após (16^o dia), as aves desafiadas receberam um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC[®] 8739TM) com uma concentração calculada de 10⁹ UFC/ave aplicado diretamente no inglúvio. A avaliação do peso corporal (PC), consumo médio de ração (CMR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) foram realizadas semanalmente. O grau de empenamento foi avaliado aos 28, 35 e 42 dias de idade. Fragmentos dos segmentos intestinais foram colhidos aos 19 dias de idade após procedimento de eutanásia de duas aves/repetição para avaliação da morfometria intestinal e análise da capacidade proliferativa das células intestinais. A permeabilidade da mucosa intestinal foi mensurada pela avaliação dos níveis séricos de isotiocianato de fluoresceína (FITC-d). Amostras de excretas cecais foram colhidas aos 42 dias de idade oriundas de 7 aves por tratamento para determinar o perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Para o cálculo do rendimento carcaça, cortes

e deposição de gordura abdominal, aos 42 dias, foram abatidas 60 aves por tratamento. Os procedimentos estatísticos foram realizados através da análise de variância (ANOVA), do General Linear Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS e, quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os resultados desta avaliação indicam que o protocolo de indução de enterite proposto neste estudo foi eficaz, com o desempenho comprometido ($p < 0,05$) em relação ao grupo de aves que não foi experimentalmente exposto ao desafio. As aves que não receberam AMD nas rações e foram suplementadas com 0,5kg e 1,5kg de inclusão do *blend* de aditivos alimentares apresentaram resultados similares para GP e CA em comparação com as aves que receberam dietas com AMD. Ao ser considerado o período pós desafio e o período total de criação, as aves suplementadas com 1,5kg do *blend* de aditivos alimentares foram aquelas que obtiveram melhor ($p < 0,05$) CA, assim como as aves suplementadas com 1,0kg do *blend* associado ao AMD apresentaram maior ($p < 0,05$) GP em relação as demais dietas. O *blend* de aditivos composto por proteinato de zinco, levedura hidrolisada e butirato de sódio encapsulado utilizado nas dietas de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade submetidos ou não a desafio entérico proposto neste experimento proporcionou resultados de desempenho similares ou até mesmo superiores aqueles observadas com dietas suplementadas com AMD. Assim, o *Blend* pode ser indicado para atuar como alternativa ou então em conjunto ao AMD na criação de frangos de corte.

Palavras-chave: Antibiótico melhorador de desempenho, butirato de sódio, coccidiose, *Escherichia coli*, frangos de corte, microbiota intestinal

EFFECTIVENESS OF A BLEND LEVELS OF ADDITIVES ON PERFORMANCE AND INTESTINAL HEALTH OF EXPERIMENTALLY CHALLENGED BROILERS.

ABSTRACT: The maintenance of good intestinal integrity and health are of fundamental importance so that production animals can be able to express their genetic potential. In order to measure the impact of different variables involved in the context of broiler production, it is necessary to apply experimental protocols that are capable of simulating the reality of the field, allowing the accurate evaluation of food additives. In this sense, we aim to evaluate the performance, morphology, and regenerative capacity of the intestinal mucosa, as well as to study intestinal microbiota responses and the immune response of birds fed with a blend of additives composed of zinc proteinate, hydrolyzed yeast and encapsulated sodium butyrate associated or not with the use of antibiotic growth promoter in broilers submitted or not to an enteric challenge proposal. This study was carried out in the experimental aviary of the Federal University of Paraná – Palotina campus. A total of 3,936 male broiler chicks (Ross AP95®) were used and the birds were housed on shavings bedding, with water and feed ad libitum and divided into a 6 x 2 factorial scheme (Negative control (NC), Positive control (PC); PC + 1.0kg of Blend of additives/ton of feed; NC + 0.5kg; NC + 1.0kg; NC + 1.5kg of Blend of additives/ton of feed Vs with and without experimental enteric challenge), with 8 replications per treatment and 41 birds each. At 14 days of age, birds in the challenged groups were inoculated into the coccidiosis vaccine pool containing 20 times the dose recommended by the manufacturer. Two days later (16th day), the challenged birds received an inoculum containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) with a calculated concentration of 10^9 CFU/bird applied directly to the flock. The evaluation of body weight, average feed intake, weight gain, and feed conversion were performed weekly. The degree of warpage was evaluated at 28, 35 and 42 days of age. Fragments of intestinal segments were collected at 19 days of age after euthanasia procedure of two birds/repeat for evaluation of intestinal morphometry and analysis of the proliferative capacity of intestinal cells. Intestinal mucosal permeability was measured by assessing serum levels of fluorescein isothiocyanate (FITC-d). Cecal excreta samples were collected at 42 days of age from 7 birds per treatment to determine the short chain fatty acid (SCFA) profile. For the calculation of carcass yield, cuts and abdominal fat deposition, at 42 days, 60 birds were slaughtered per treatment. Statistical procedures were performed using analysis of variance (ANOVA) using the General Lineal Model (GLM) using

the SAS statistical program and, when significant, the treatment means were compared using Tukey's test ($p < 0.05$). The results of this evaluation indicate that the enteritis induction protocol proposed in this study was effective, with compromised performance ($p < 0.05$) in relation to the group of birds that were not experimentally exposed to the challenge. The birds that did not receive AGP in the diets and were supplemented with 0.5kg and 1.5kg of inclusion of the blend of feed additives showed similar results for WG to those birds that received diets with AGP. When considering the post-challenge period and the total rearing period, the birds supplemented with 1.5kg of the feed additive blend were those that obtained the best ($p < 0.05$) feed conversion rate, as well as the birds supplemented with 1.0kg of the blend associated with AGP showed higher ($p < 0.05$) weight gain in relation to the other diets. The blend of food additives composed of zinc proteinate, hydrolyzed yeast and encapsulated sodium butyrate used in the diets of broilers from 1 to 42 days of age submitted or not to the enteric challenge proposed in this experiment provided results similar or even superior to those when using AGP. Thus, this Blend can be indicated to act as an alternative or together with AGP in the creation of broilers.

Keywords: Antibiotic growth promoter, broilers, coccidiosis, *Escherichia coli*, intestinal microbiota, sodium butyrate

LISTA DE TABELAS

Capítulo III.....	64
Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de 01 a 42 dias (g.kg-1)	70
Tabela 02 – Performance produtiva (Peso corporal (PC), Ganho de peso (GP), Consumo de alimento (FI) e Conversão alimentar (CA)) de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos de corte.....	73
Tabela 03 – Performance produtiva (Peso corporal (PC), Ganho de Peso (GP), Ingestão de Alimento (FI) e Conversão Alimentar (CA)) de frangos de corte de 22 a 28 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio entérico.....	73
Tabela 04 – Performance produtiva (Peso corporal (PC), Ganho de Peso (GP), Ingestão de Alimento (FI) e Conversão Alimentar (CA)) de frangos de corte de 29 a 35 dias de idade suplementados com Blend de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio entérico.....	74
Tabela 05 – Performance produtiva (Peso corporal (PC), Ganho de Peso (GP), Ingestão de Alimento (FI) e Conversão Alimentar (CA)) de frangos de corte de 36 a 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio entérico.....	74
Tabela 06 – Performance produtiva (Ganho de peso (GP), Consumo de alimento (FI) e Conversão Alimentar (CA)) de frangos dos 21 aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> e/ou AMD para frangos submetidos a um modelo de desafio entérico.....	75
Tabela 07 – Performance produtiva (Ganho de peso (GP), Consumo de alimento (FI) e Conversão Alimentar (CA)) de frangos de 1 a 42 dias de idade suplementados com Blend de aditivos e/ou AMD para frangos submetidos a um modelo de desafio entérico.....	75
Tabela 08 – Escore de empenamento (1 a 5) de frangos de corte aos 28, 35 e 42 dias de idade suplementados com Blend de aditivos e ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio experimental.....	76
Tabela 09 – Peso absoluto e relativo de penas de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio experimental.....	77

Tabela 10 – Desdobramento da interação do peso relativo das penas (peso das penas/peso abatido com penas) de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD submetidos a um modelo de desafio experimental.....	78
Tabela 11 – Uniformidade (CV %) em frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD submetidos a um modelo de desafio experimental.....	79
Tabela 12 – Peso relativo de carcaça e rendimento de cortes nobres de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio experimental.....	81
Tabela 13 – Desdobramento da interação do peso relativo da gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD submetidos a um modelo de desafio experimental.....	81
Capítulo IV.....	92
Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de 01 a 42 dias (g.kg-1)	99
Tabela 02 – Performance produtiva (Peso corporal (PC), Ganho de peso (GP), Consumo de alimento (FI) e Conversão alimentar (CA)) de frangos de corte de 15 a 21 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos de corte.....	102
Tabela 03 – Desdobramento da Interação do peso corporal de frangos de corte de 15 a 21 dias de idade suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio experimental.....	104
Tabela 4 – Níveis séricos de FITC-d aos 19 dias de idade (3 dias após a inoculação de <i>E. coli</i>) de frangos de corte suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e/ou AMD submetidos a um modelo de desafio experimental.....	105
Tabela 05 – Morfometria da mucosa intestinal do duodeno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com <i>blend</i> de aditivos e/ou AMD em frangos de corte desafiados experimentalmente.....	108
Tabela 06 - Morfometria da mucosa intestinal do jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com <i>blend</i> de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados experimentalmente.....	109
Tabela 07 - Desdobramento da interação entre dietas e desafio para largura do Vilo, largura da cripta e área de absorção do jejuno.....	110

Tabela 08 - Morfometria da mucosa intestinal do íleo de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com <i>blend</i> de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados experimentalmente.....	111
Tabela 09 - Desdobramento da interação entre dietas e desafio para largura do vilo do íleo.....	112
Tabela 10 – Contagem de células PCNA positivas na mucosa do jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com <i>Blend</i> de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente.....	113
Tabela 11 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (mmol/kg) no conteúdo cecal de frangos de corte aos 42 dias de idade, recebendo dietas suplementados com <i>blend</i> de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados experimentalmente.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal

AGCC – Ácidos Graxos de Cadeia Curta

AGPs – Antibiotic Growth Promoters

AMD – Antibiótico Melhorador de Desempenho

ANOVA - Análise de Variância (*Analysis of Variance*)

APEC – *Avian pathogenic E. coli*

ATCC - *American Type Culture Collection*

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

BSE – Butirato de Sódio Encapsulado

CEPEA Esalq – USP – Centro de estudos avançados em economia aplicada – Universidade de São Paulo

CA – Conversão alimentar

CMR – Consumo médio de ração

CN – Controle negativo

CP – Controle positivo

CV- Coeficiente de Variação

E. coli - *Escherichia coli*

EMBRAPA – Empresa brasileira de pesquisa agropecuária

FAO – Organização das nações unidas para alimentação e agricultura

FITC-d – Isotiocianato de dextrano fluoresceína

FGV IBRE – Fundação Getúlio Vargas

FOS – Frutoligossacarídeos

G – Grama (unidade de peso)

GLM - General Linear Model

GOS – galactoligossacarídeos

GP – Ganho de peso

ISO – *International Organization for Standardization*

Kg - Quilograma

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MOS – Manonoligossacarídeos

ml – Mililitro

µg/ml – Micrograma por mililitro

mm² - Milímetro quadrado

NE – *Necrotics enteritis* (Enterite necrótica)

OCDE – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

PC – Peso corporal

PCNA – *Proliferating cell nuclear antigen*

PH - Potencial Hidrogeniônico

PIB – Produto Interno Bruto

SAS – Statistical Analysis System

SI – Sistema imune

TGI – Trato gastrointestinal

TJ - Junções Firmes (*Tight junction*)

UFC – Unidades formadoras de colônias

UFPR - Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	23
2. Revisão	27
2.1. Contextualizando a avicultura de corte comercial, a evolução de indicadores importância da aplicação de protocolos experimentais no estudo de enterites em frangos de corte.....	27
2.2. Morfologia e estrutura funcional da parede intestinal das aves.....	33
2.2.1 Processos de reparação e de regeneração da mucosa intestinal.....	35
2.3. Microbiota intestinal de frangos de corte.....	39
2.4. Saúde intestinal de frangos de corte.....	40
2.5. Uso de aditivos em dietas de frangos de corte.....	41
2.5.1 Antibióticos.....	42
2.5.2. Ácidos orgânicos.....	44
2.5.3. Prebióticos.....	47
2.5.4. Proteinato de Zinco.....	49
Referências bibliográficas.....	51
3. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com um <i>blend</i> de aditivos alimentares e submetidos a um modelo de desafio entérico.....	64
3.1. INTRODUÇÃO	67
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	69
3.2.1 Avaliação do Desempenho das aves.....	71
3.2.2 Escores de empenamento.....	71
3.2.3 Uniformidade das aves.....	72
3.2.4 Rendimento de Carcaça de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal.....	72
3.2.5 Análise Estatística.....	72
3.3. RESULTADOS	72
3.4. DISCUSSÃO	82
3.5. CONCLUSÕES	87
3.6. REFERÊNCIAS	88
4. Saúde intestinal de frangos de corte suplementados com um <i>blend</i> de aditivos alimentares e desafiados experimentalmente.....	92

4.1. INTRODUÇÃO	95
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	97
4.2.1 Avaliação do Desempenho das aves na semana pós desafio (15 a 21 dias de idade).....	100
4.2.2 Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal.....	100
4.2.3 Morfometria intestinal.....	100
4.2.4 Análise da Capacidade Proliferativa das Células Intestinais.....	101
4.2.5 Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta em conteúdo cecal.....	101
4.2.6 Análise Estatística.....	101
4.3. RESULTADOS	102
4.4. DISCUSSÃO	115
4.5. CONCLUSÕES	123
4.6. REFERÊNCIAS	124

1 INTRODUÇÃO GERAL

O setor avícola brasileiro, há muitos anos, representa um dos mais pujantes ramos do agronegócio nacional representando cerca de 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) e gerando mais de 4 milhões de empregos diretos e indiretos. Em 2021, o Brasil recuperou a 2ª posição como maior produtor mundial de carne de frango ultrapassando a China e ficando atrás apenas dos Estados Unidos. A produção brasileira atingiu 14,35 milhões de toneladas produzidas, representando um aumento de 3,39% quando comparamos com a produção total de 2020. Em relação aos indicadores dos principais países exportadores deste produto o Brasil é o principal *player* do mercado global e é projetado o volume de 4,5 milhões de toneladas em 2021, montante 7,5% maior do que em 2020. O mercado interno deve crescer 2% e o consumo de carne de frango por habitante se aproxima de 46kg ao ano (ABPA, 2021).

De acordo com dados do CEPEA/Esalq-USP (2021), a avicultura de corte aumentou o seu faturamento em 9,98% em 2020 em relação ao mesmo período de 2019. A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) projeta que o Brasil deve incrementar sua produção de frangos na faixa de 3,0% a 6,5% em 2022 comparativamente aos números de 2021 e as exportações podem crescer cerca de 3,6%.

Apesar de projeções otimistas, a atenção deve ser mantida sobre aspectos importantes que podem impactar negativamente o setor. A ocorrência de problemas sanitários como *Influenza* aviária em outros países sempre é motivo de preocupação, pois o Brasil é livre desta enfermidade e esses episódios externos costumam provocar impactos negativos no mercado podendo afetar também o mercado brasileiro. Além disso, a crise global causada pela pandemia do Coronavírus (Covid-19) afeta o setor avícola em diferentes frentes como, por exemplo, na saúde das pessoas e na economia inflacionando a cadeia produtiva acima do que foi previsto. De acordo com Pinheiro e Matos (FGV IBRE, 2021), o desempenho econômico e o setor de serviços no Brasil apresentaram, em 2021, números aquém do que se estimava em razão dos desdobramentos da pandemia.

Muito em razão deste cenário, inúmeras consequências já estão (e continuarão) sendo percebidas pela população em geral. Os custos de produção e os preços de venda dos produtos sofrem aumentos constantes em diversas áreas e no setor avícola também se percebe que os custos se elevaram consideravelmente. Historicamente, a ração fornecida aos frangos de corte é considerada como o principal indicador na composição dos custos produtivos. No cenário atual, o percentual do custo da ração de frangos representa mais de

75% do total, especialmente pela disparada dos valores no mercado internacional dos principais grãos, milho e soja, que compõem as dietas dessas aves (EMBRAPA, 2021).

Levantamentos realizados pela OCDE/FAO já em 2017 e, corroborados em 2021, projetavam que a carne de frangos seria a principal carne consumida mundialmente a partir de 2020 ultrapassando a carne suína. Diversos fatores são relevantes para a obtenção deste patamar alcançado pela cadeia avícola. A alta produtividade e a eficiência deste setor estão fortemente baseadas no melhoramento genético, na nutrição, na saúde animal bem como em melhorias das práticas de manejo e ambiência (SIMITZIS *et al.*, 2012).

Essas melhorias somadas à percepção do consumidor de que a carne de frango é um produto saudável, tem custo acessível e não tem restrições religiosas formam uma base sólida de comercialização global. Entretanto, há alguns anos, os modelos tradicionais de criação de aves vêm sendo amplamente discutidos e alguns dos principais pontos analisados dizem respeito ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD), bem-estar animal e o impacto da cadeia produtiva no meio ambiente.

De modo geral, tradicionalmente, as agroindústrias realizam o controle de determinados quadros de enterites em frangos de corte através do uso subterapêutico de antibióticos fornecidos na alimentação das aves. Porém, após longo período de discussões, pelo princípio da precaução, o uso destes antimicrobianos como melhoradores de desempenho foi proibido na União Europeia em 2006 em acordo com o regulamento CE N°. 1831/2003 (HUYGHEBAERT, 2011). De forma semelhante, outros importantes países estão adotando medidas similares pressionando de maneira crescente para também restringirem o uso destes produtos.

A proibição e retirada dos AMD foi resultado de preocupações sobre o surgimento de bactérias resistentes a antibióticos, pois ao longo do tempo e, em determinadas situações, algumas bactérias têm a capacidade de transferirem, umas às outras, genes de resistência, o que pode tornar mais complexo e menos eficiente o tratamento de humanos e animais enfermos (McMULLIN, 2004). Em razão de que países e empresas relevantes passam a questionar o uso de antibióticos, o próprio uso com fins terapêuticos, passou a ser monitorado fazendo com que os profissionais das áreas afins realmente os utilizem se baseando estritamente nas orientações técnicas.

Nesse contexto, a realização de pesquisas em nutrição e saúde animal bem como o desenvolvimento de aditivos alimentares que possam atuar de modo a contribuir com melhorias na saúde intestinal dos animais de produção (que proporcionam melhor equilíbrio da microbiota intestinal, auxílio na manutenção da integridade da mucosa do trato

gastrointestinal e do funcionamento equilibrado do Sistema Imune (SI)), é de grande valia para que a cadeia de produção de alimentos tenha informações e mecanismos de trabalho seguros mantendo (ou até mesmo melhorando) os resultados obtidos quando do uso de AMD. Em adição, essas pesquisas possibilitam o entendimento dos eventos que ocorrem após uma infecção em um plantel de frangos de corte sendo este conhecimento importante para que as equipes técnicas responsáveis pela criação das aves possam desenvolver estratégias para controlar enterites (BORTOLUZZI *et al.*, 2019) permitindo o saudável desenvolvimento animal e atendendo os anseios do consumidor. Cabe ressaltar que adoção de medidas preventivas, para minimizar a ocorrência de enfermidades, sempre se faz necessária para reduzir a pressão de possíveis desafios que possam ocorrer em criações comerciais.

Globalmente, é prática comum a inclusão de diferentes classes de aditivos nutricionais nas dietas dos animais de produção visando melhorar o aproveitamento dos nutrientes, prevenir problemas sanitários bem como otimizar e promover melhor desempenho durante o ciclo produtivo. O uso de aditivos alimentares geralmente ocorre de forma individualizada (aplicação na produção das rações). No entanto, muitos nutricionistas e gestores de processos de produção estão cada vez mais buscando o uso de *blends* de aditivos, os quais, desde que corretamente formulados, permitem maior segurança de mistura e maior praticidade na produção de rações otimizando o tempo de trabalho nas fábricas.

Diversas linhas de pesquisa vêm avaliando diferentes métodos de indução de enterites e seus efeitos sobre o desempenho animal e sobre a microbiota e a saúde intestinal de frangos de corte (MESA *et al.*, 2014; BORTOLUZZI *et al.*, 2019; CHASSER *et al.*, 2019). Tais estudos geram informações que possibilitam interpretações de variáveis e dados úteis para traçar estratégias de controle de enterites em lotes comerciais de frangos de corte, bem como podem auxiliar na identificação e desenvolvimento de tecnologias alternativas ao uso de antibióticos.

Ao se realizar estudos e avaliações de novas tecnologias é ideal que se apliquem protocolos experimentais capazes de simular a realidade de campo permitindo melhor avaliação dos resultados obtidos e dos produtos analisados. Associados, fatores ligados a biossegurança, ao bem-estar animal, a nutrição, ao melhoramento genético e ao manejo permitem melhorar as repostas animais tornando o modelo de criação mais eficaz. Patrício *et al.* (2012) e Havenstein *et al.*, (2003) comparam indicadores de evolução em diferentes épocas que impactaram em melhor desempenho dos frangos de corte (ganho de peso; ritmo de crescimento e consumo de ração, respectivamente). Há também condições com efeitos

negativos que podem prejudicar os resultados de criação dos frangos como, por exemplo, em casos de problemas entéricos, respiratórios ou sistêmicos (TEIRLYNCK *et al.*, 2011; SOUZA *et al.* 2016) que podem ser provocados por agentes infecciosos ou não infecciosos.

Determinados microrganismos classificados como importantes agentes infecciosos na criação de frangos de corte, como *Clostridium perfringens* e *Eimeria* spp. (MEJÍA *et al.*, 2018; FREITAS *et al.*, 2008), podem ser causadores primários de problemas entéricos ocasionando enormes prejuízos à saúde dos animais, à qualidade dos alimentos e, conseqüentemente, também prejudicar a qualidade dos produtos a serem originados do processo de criação desses animais (alimentos) gerando significativas perdas financeiras na cadeia avícola.

Escherichia coli, bactéria gram-negativa comumente encontrada em sistemas de produção, pode ser um agente complicador (oportunista) em casos de lotes acometidos por enterites. A *E. coli* pode também agir como agente primário, especialmente no sistema respiratório e/ou celulite, comprometendo de tal forma os animais ao ponto de oportunizar alto grau de debilidade sistêmica e criando também condições favoráveis para o acometimento entérico (DHO-MOULIN & FAIRBROTHER, 1999; TAN *et al.*, 2014). É comum, no entanto, que estes agentes estejam associados a fatores não infecciosos, como falhas de manejo e/ou ambiência e/ou programas de vacinas, alterações na alimentação ou nos componentes das dietas, fatores imunossupressores, microtoxinas, entre outros (CROXEN & FINLAY, 2010; DE CARLI, *et al.*, 2015; HUANG *et al.*, 2018) e a identificação da causa primária, muitas vezes, é de difícil diagnóstico ou até mesmo desconhecida.

O controle e o entendimento de enterites bem como sua patogênese é fundamental para que os profissionais a campo possam adotar as melhores estratégias de prevenção e controle. Neste contexto, propõe-se um modelo de desafio entérico que permita avaliar parâmetros de desempenho animal, a morfologia e a capacidade regenerativa da mucosa intestinal, estudar a modulação da microbiota intestinal. Além disso, objetiva-se estudar a modulação da microbiota intestinal e a resposta imune das aves alimentadas com um *Blend* de aditivos alimentares composto à base de ácido orgânico (butirato de sódio encapsulado - BSE), levedura hidrolisada e proteinato de zinco associado ou não a antibiótico melhorador de desempenho e submetidas ou não ao desafio entérico proposto.

2. REVISÃO

2.1 CONTEXTUALIZANDO A AVICULTURA DE CORTE COMERCIAL, A EVOLUÇÃO DE INDICADORES E A IMPORTÂNCIA DA APLICAÇÃO DE PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS NO ESTUDO DE ENTERITES EM FRANGOS DE CORTE

A cadeia produtiva de frangos de corte representa um dos mais importantes elos do agronegócio brasileiro. Atualmente, o Brasil é o principal fornecedor mundial de carne de frango e o segundo maior produtor (ABPA, 2021). Este posto pôde ser alcançado em razão de alguns fatores e características intrínsecas da cadeia avícola como, por exemplo, a intensiva implantação de tecnologia de ponta, alta qualidade genética dos rebanhos, nutrição de precisão, excelente status sanitário, respeito a rígidas normativas e legislações nacionais e internacionais, dinamismo do mercado que apresenta alto grau de concorrência, capacidade de adaptação dos produtos às demandas do consumidor, rápidas adaptações a temas relevantes em discussão (produção sustentável, impactos ambientais dos sistemas de produção, bem-estar animal, segurança alimentar).

Este cenário exige que os profissionais e empresas ligados a esta cadeia produtiva estejam engajados continuamente. Integrados, estes fatores que proporcionam evolução considerável dos resultados zootécnicos necessitam, em paralelo, de estudos científicos que forneçam relevantes informações para poder manter a competitividade nos mercados interno e externo sempre buscando o melhor entendimento das variáveis envolvidas (SCHEUERMANN *et al.*, 2015; SIMITZIS *et al.*, 2012).

Alguns exemplos evidenciam a evolução de desempenho da cadeia avícola. Patrício *et al.* (2012) comparam a taxa de crescimento dos frangos de corte à época (2,83g/h) frente aos resultados de 1990 (1,87g/h). Atualmente, já é possível identificar lotes com taxa média de crescimento superior a 3,0g/h o que equivale ao ganho de peso diário (GPD) superior a 72 gramas.

Outro indicador de extrema importância diz respeito ao ciclo de crescimento das aves. A evolução nos resultados das taxas de crescimento ao longo dos anos impacta diretamente no período total necessário para criar os frangos. Segundo Havenstein *et al.* (2003), o ciclo de crescimento dos frangos de corte em 1957 era de 101 dias e, em 2001, passou a ser de apenas 32 dias para obter a mesma faixa de peso. Isso significa uma redução de mais de dois terços do tempo. Além da significativa redução do tempo necessário para se

concluir um ciclo produtivo também há grande relevância técnica e financeira, especialmente sob a ótica do menor consumo de ração e melhor aproveitamento da propriedade e instalações.

Considerando-se que o custo alimentar é o que mais causa impacto econômico na cadeia de criação de frangos de corte, diversas agroindústrias determinam a remuneração da rede de integrados baseadas na conversão alimentar de cada lote produzido como medida de eficiência da produção.

A conversão alimentar é calculada com base no consumo total de ração consumida pelo animal dividido pelo ganho médio de peso. A comparação dos resultados em diferentes momentos da história da avicultura mostra que, em 1930, o ciclo de criação durava, em média, 105 dias para um frango atingir 1,5kg de peso vivo. A conversão alimentar nesta época era de 3,5kg de ração consumida para cada 1kg de ganho de peso. Em 2009, a criação dos frangos já era realizada em 35,12 dias para ser obtida uma ave de 2,6kg de peso vivo com conversão alimentar de 1,83 (PATRÍCIO *et al* 2012; OLIVEIRA & NÄÄS, 2012). Atualmente, segundo informações das linhagens genéticas de frangos de corte, a evolução média da conversão alimentar é de cerca de 0,02 pontos ao ano. Além da grande importância econômica deste indicador ele representa também uma melhor relação da cadeia produtiva com o meio ambiente no qual está inserido, pois há significativa redução da necessidade de consumo de ração a cada ano em virtude da melhor taxa conversão apresentada pelos animais.

Como visto, anualmente, as linhas genéticas apresentam ao mercado evolução considerável dos resultados de desempenho zootécnico. Este alto rendimento exige que as aves expressem sua máxima capacidade a todo instante e isso faz com que elas estejam sempre no limiar do equilíbrio fisiológico tornando necessário o correto funcionamento de todos os sistemas relacionados à criação para que não haja a ocorrência de problemas ao longo do ciclo produtivo.

Para auxiliar na busca de melhores resultados, determinadas estratégias de apoio são necessárias. Ao longo de muitos anos, o uso dos AMD em doses subterapêuticas na ração exerceu papel fundamental para se obter os atuais resultados na avicultura. Através do seu uso, os AMD permitiram um melhor controle de agentes infecciosos que têm potencial de provocar consideráveis prejuízos ao desenvolvimento dos animais em razão de causarem doenças entéricas. No entanto, apesar dos grandes benefícios obtidos com o uso de antibióticos como aditivos melhoradores de desempenho na criação animal, há severas críticas e contestações em relação ao seu uso.

Estudos relacionados a saúde humana e animal contrapõe essa estratégia indicando que o uso prolongado e/ou em doses subterapêuticas de determinados princípios ativos antimicrobianos pode induzir a ocorrência de efeitos negativos diretos e/ou indiretos à saúde por distintas razões:

a) é possível encontrar resíduos destes antibióticos nos produtos de origem animal que serão consumidos pelos humanos. Isso pode causar danos à saúde do consumidor gerando fortes questionamentos sobre a segurança alimentar dos produtos de origem animal;

b) algumas moléculas de antibióticos usadas nas dietas animais também podem ser utilizadas em tratamentos humanos e, quando o uso se dá por período prolongado e/ou em doses subterapêuticas também na produção animal, pode ocasionar o desenvolvimento de genes de resistência por parte das bactérias. Essas situações podem tornar os tratamentos de humanos enfermos mais complexos comprometendo o princípio de saúde única, o qual associa intimamente a saúde animal, humana e ambiental (ALBINO *et al.* 2006; CAI *et al.*, 2014; BUDIÑO *et al.*, 2005; FLEEMING, 2005; KIRCHHELLE, 2018; McMULLIN, 2004).

Por razões desta ordem, desde 2006, a União Europeia banuiu o uso contínuo de antibióticos como melhoradores de desempenho nas criações de animais de produção e passaram a exigir as mesmas medidas dos seus fornecedores. Após esta decisão da União Europeia outros países bem como grandes redes de *fast-food* também passaram a restringir ou mesmo proibir a produção/consumo de produtos de origem animal advindos de sistemas de criação que usam AMD nas dietas animais tornando crescente a pressão sobre os produtores.

Diante deste cenário, que modifica sobremaneira o modelo tradicional de criação dos animais a campo, a busca por alternativas que substituam os AMD mantendo a eficiência produtiva, os custos de produção e a saúde intestinal, torna-se extremamente importante. Ácidos orgânicos, prebióticos, probióticos, óleos essenciais e extratos vegetais estão entre as alternativas que têm recebido especial atenção.

Outras práticas e variáveis envolvidas no contexto produtivo de frangos de corte também passam por adaptações com o passar do tempo e merecem atenção dos envolvidos, pois influem no resultado. A densidade de alojamento, a velocidade de empenamento das aves, ocorrência de problemas sanitários, qualidade de água e de ração, tamanho de partículas das rações, micotoxinas, fatores estressores e/immunossupressores, equipamentos, programas de luz, entre outros, são exemplos de importantes práticas que devem ser

continuamente estudadas para que possa haver conexão favorável destas com o resultado final de criação das aves.

Algumas dessas variáveis podem gerar resultados negativos às aves e ao sistema de criação causando problemas sanitários como, por exemplo, as enterites. Para que os animais possam desempenhar o máximo potencial um dos principais aspectos a serem cuidados diz respeito à manutenção da integridade do trato gastrointestinal (TGI), pois em casos de ocorrência de desafios entéricos estes problemas provocam alto gasto de energia na tentativa dos animais de reestabelecerem a homeostasia. Adicionalmente, problemas entéricos provocam redução da absorção dos nutrientes em razão de que as células intestinais lesadas apresentam redução ou completa perda de função comprometendo a eficiência da conversão alimentar em produto cárneo elevando os custos da integração (RUTZ *et al.*, 2015).

Enterite é, por definição, a inflamação da mucosa intestinal que pode ocorrer em razão de diversas causas como nas infecções por bactérias, vírus, fungos, toxinas, parasitas e até mesmo pelo próprio alimento. Na prática, as causas de enterites são multifatoriais, e diversos agentes podem estar associados ao mesmo problema. Isto dificulta o diagnóstico preciso e a consequente definição do tratamento adequado ao mesmo tempo em que a rápida evolução dos sintomas acentuam as perdas.

A coccidiose causada por protozoários do gênero *Eimeria* spp. e a Enterite Necrótica (EN) causada pela bactéria *Clostridium perfringens* são os principais agentes infecciosos responsáveis por enterites em frangos de corte (HORNINK & KAWAZOE, 2020; SKINNER *et al.*, 2010).

A coccidiose é uma doença que causa infecção intestinal e tem sido considerada uma das mais importantes doenças da avicultura comercial, pois chegou a gerar perdas anuais superiores a US\$ 3 bilhões (McDOUGALD, 1997; DALLOUL & LILLEHOJ, 2006) relacionadas a profilaxia, redução de ganho de peso e piora na conversão alimentar, além de perdas subclínicas. Essa doença pode acometer criações de frango de corte, matrizes, perus e aves de postura provocando significativas perdas devido à mecanismos que reduzem a eficiência imunológica e metabólica das aves. Além disso, Prescott *et al.* (2016) destacam que é considerada como uma das mais relevantes causas predisponentes para a ocorrência de enterite necrótica devido às lesões causadas no intestino pela *Eimeria*.

A multiplicação das eimerias se dá no intestino das aves, no interior das células intestinais. Essa multiplicação é responsável por severos danos teciduais podendo causar quadros de diarreia aquosa ou hemorrágica e, por consequência, piorando a digestão de alimentos e a absorção de nutrientes. Adicionalmente, em razão dos danos intestinais

provocados pela multiplicação das coccídeas, há também mudanças nas funções do trato intestinal, permitindo a colonização de vários agentes patogênicos (KAWASOE, 2000).

Quando se considera apenas a ocorrência de infecção causada pelo *C. perfringens* (EN) as perdas econômicas também são elevadas e estimadas em mais de US\$ 6 bilhões em prejuízos anuais (WADE & KEYBURN, 2015).

A enterite necrótica ocorre principalmente em aves jovens e é considerada como uma enterotoxemia aguda, não contagiosa. Essa enterite ocorre pela ação de toxinas liberadas pelo agente, sendo as aves acometidas principalmente pelas toxinas A e C. Este agente, *C. perfringens*, faz parte da microbiota normal das aves, porém em determinadas condições, quando o microambiente digestivo é alterado, a bactéria se prolifera subitamente vindo a produzir toxinas e invadir as células intestinais. Segundo Santos *et al.* (2008) o mecanismo de ação adotado pelo *Clostridium perfringens* está ligado a atuação das suas toxinas. As toxinas produzidas por ele destroem a membrana celular dos eritrócitos devido a sua propriedade de fosfolipase C. Ela hidrolisa fosfolipídeos de membrana separando a parte polar da apolar provocando a lise da membrana celular.

Podem ser considerados como fatores predisponentes as dietas de fácil fermentação ou que reduzem o peristaltismo, estresse e drogas que alteram a microbiota intestinal. Como sinais desta enfermidade podem ser observadas aves prostradas, com falta de apetite e apáticas. Em quadros avançados há desidratação podendo ocorrer alto percentual de mortalidade no lote acometido (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004; TIMBERMONT *et al.*, 2011; ALBORNOZ *et al.*, 2014).

Na avicultura moderna, quadros de enterites representam significativas perdas de desempenho, aumento dos custos de tratamento veterinário e, por consequência, acarretam elevados prejuízos econômicos. Como o diagnóstico nem sempre é simples e direto, quadros de doença entérica subclínica são corriqueiros e essa característica permite, muitas vezes, que haja predisposição e envolvimento de outros agentes infecciosos que podem agravar o quadro de infecção.

Pelo fato de que a região intestinal de aves acometidas por doença entérica geralmente manifesta a ocorrência de lesão tecidual, em maior ou menor grau, existem bactérias presentes no trato gastrointestinal destas aves que podem agravar os danos à saúde. Por exemplo, a *Escherichia coli*, que é uma bactéria gram negativa e que compõe a microbiota normal do intestino de frangos de corte, pode, em quadros de enterites, agravar a condição intestinal e/ou, através da penetração na corrente sanguínea, acometer outros

órgãos e sistemas desencadeando quadros de infecção localizada ou generalizada (colisepticemia).

Cepas de *E. coli* patogênicas para as aves são denominadas APEC (*Avian Pathogenic E. coli*) e a doença causada por essas cepas se denomina colibacilose aviária. A colibacilose pode ser causa primária ou secundária e, mundialmente, é relacionada como uma das mais importantes causas de condenações de carcaças de frangos de corte, aumento da taxa de mortalidade embrionária e piora nos índices de conversão alimentar (BARNES; GROSS, 1997).

Nos últimos anos, significativas alterações vêm ocorrendo e determinando novas maneiras de criação das aves a campo. Com a crescente restrição de uso dos AMD e as mudanças das exigências e do perfil dos consumidores, as agroindústrias e centros de pesquisa necessitam desenvolver novas estratégias e tecnologias que permitam continuar desenvolvendo e atualizando os conhecimentos na área avícola.

Pesquisas e análises de quadros de enterites (sejam específicas ou inespecíficas) associadas ao desempenho animal, a patogênese, as formas de controle das enterites, a composição e a modulação da microbiota intestinal são de fundamental importância. No mesmo sentido, o entendimento dos eventos moleculares que acontecem nas aves após uma infecção é essencial para desenvolver estratégias nutricionais ou de manejo para controlar a doença.

Os protocolos experimentais têm o intuito de simular a condição sanitária de um aviário comercial que permita realmente espelhar a realidade de campo no estudo, por exemplo, de enterites. Para isso, é importante que os pesquisadores sempre levem em consideração que a simulação dos episódios que ocorrem em uma granja comercial são complexos e apresentam elevado número de variáveis envolvidas. Mesmo havendo dificuldade para reproduzir quadros entéricos a nível experimental, este processo é de fundamental importância. Há inúmeros estudos avaliando diferentes métodos para induzir enterites e avaliar seus efeitos na saúde intestinal de frangos de corte. Esses protocolos e avaliações estão gerando importantes informações sobre a severidade e a classificação das lesões, além de permitirem análises sobre o efeito de componentes nutricionais (MESA *et al.*, 2014), aditivos alimentares (SHAWKAT *et al.*, 2015), bem como o uso associado ou não aos AMD (BELOTE *et al.*, 2018), vacinas (SWAGGERTY *et al.*, 2016) e agentes infecciosos (FERNANDES, *et al.*, 2016; WILSON, *et al.*, 2018).

Recentemente, o estudo de Wilson *et al.*, (2018) mostrou que um fator predisponente, como coccidiose, era necessário para desenvolver lesões características de enterite necrótica

(EN), levar à manifestação de sinais clínicos e prejudicar o desempenho das aves. No entanto, não há um protocolo definitivo indicando o melhor método de indução de enterite a ser utilizado. Na literatura científica é possível encontrar avaliações que fazem uso de cama reutilizada (JONES & HAGLER, 1982; ALMEIDA, 2012), infecção bacteriana controlada (LOURENÇO *et al.*, 2013), administração de água de bebida contaminada com excretas de aves (SILVA, 2008; BARBOSA, 2011), entre outros.

Para o melhor entendimento das respostas expressas pelas aves alojadas em granjas comerciais bem como de fatores que resultam em melhor qualidade dos produtos avícolas destinados ao consumo humano, a continuidade e o desenvolvimento de estudos e pesquisas é extremamente relevante para a cadeia produtiva. Respostas assertivas quanto ao uso ou não de aditivos alimentares destinados à busca de melhor desempenho e/ou melhor enfrentamento de possíveis desafios, bem como disponibilizar informações sobre tecnologias que possam se somar ao uso AMD, ou até mesmo substituí-los com segurança, são relevantes e podem trazer retorno positivo ao setor agroindustrial.

Em uma pesquisa, a aplicação de um protocolo experimental confiável e capaz de simular de modo equivalente a realidade de campo pode contribuir e permitir uma melhor avaliação dos resultados obtidos. Dessa maneira, se amplia o entendimento do modo de ação dos produtos que estão sendo analisados e isso auxilia a embasar relevantes tomadas de decisão dando continuidade à evolução do sistema produtivo.

2.2. MORFOLOGIA E ESTRUTURA FUNCIONAL DA PAREDE INTESTINAL DAS AVES

O TGI das aves é composto pela cavidade oral (bico ou boca), faringe, esôfago, papo, proventrículo, moela, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (cecos e cólon) e cloaca (SHANG *et al.*, 2018). O intestino delgado é responsável pela digestão final dos alimentos e praticamente toda a absorção dos nutrientes. Há também os órgãos glandulares (glândulas salivares, fígado e pâncreas) que não fazem parte do trato, mas secretam substâncias via ductos conectando os órgãos ao trato. Histologicamente, o TGI das aves é composto por quatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa, com exceção do esôfago e inglúvio que ao invés de possuir túnica serosa, possui a túnica adventícia (BOLELI; THIMOTHEO, 2017).

A mucosa do intestino delgado não apresenta as pregas macroscópicas observadas em mamíferos, no entanto apresenta diversas dobras microscópicas chamadas vilosidades

ou vilos, que proporcionam aumento na superfície interna do órgão ampliando a área de digestão e absorção intestinal (BOLELI *et al.*, 2002).

A constituição dos vilos se dá por três tipos funcionalmente distintos de células: enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas. Os enterócitos são células que respondem pela digestão final do alimento e transporte trans epitelial dos nutrientes a partir do lúmen. Estas células apresentam um processo de maturação que ocorre durante o processo de migração da cripta (base) para o ápice do vilos, e é dependente de estímulos para sua diferenciação. As células caliciformes são secretoras de glicoproteínas, que tem a função de proteger o epitélio intestinal da ação de enzimas digestivas e efeitos abrasivos da digesta. As células enteroendócrinas são produtoras de hormônios peptídicos como gastrina, secretina, colecistoquinina e monomaniás biogênicas, substâncias essas que participam da regulação da digestão, absorção e utilização dos nutrientes (BOARO, 2009).

Rutz *et al.*, (2015) mencionam que este arranjo anatômico confere ao intestino uma adequada superfície absorptiva, que permite aves e mamíferos absorverem eficientemente água e nutrientes. Estes pesquisadores também comentam que a capacidade absorptiva do TGI pode ser substancialmente afetada por substâncias como toxinas e patógenos que podem lesionar a superfície intestinal reduzindo a sua capacidade de absorção de nutrientes e, conseqüentemente, provocando danos ao desempenho animal e perdas econômicas às empresas avícolas.

A maior superfície de contato do organismo com o meio externo são as mucosas e se constitui, por isso, num importante local de interações entre estes dois meios. A mucosa do tubo digestivo apresenta uma área com cerca de 150 a 200 m², em um ser humano adulto (MOOG, 1981). Os tecidos intestinais representam cerca de apenas 5% do peso corporal, mas consomem entre 15 e 30% de todo aporte de O₂ e proteínas do organismo (GASKINS, 2001), além de cerca de 20% da energia metabolizável consumida (McBRIDE & KELLY, 1990), devido à alta taxa de renovação e intensa atividade metabólica das células. Neste sentido, o intestino não é mais reconhecido apenas pela sua importante função associado aos processos de digestão e absorção, mas também pelo importante papel imunológico na defesa contra as agressões do meio externo (GUARNER, 2006). O epitélio intestinal possui a capacidade de impedir que substâncias indesejáveis como microrganismos e toxinas presentes no lúmen intestinal atravessem a mucosa e atinjam tecidos e órgãos.

A camada de muco limita a capacidade adesiva de bactérias patogênicas e possui carboidratos complexos que podem servir de alimento para as bactérias benéficas (DAI *et al.*, 2000). Outro mecanismo protetor fundamental é a integridade da mucosa que é mantida

por junções espessas (*Tight junctions*) entre as células intestinais funcionando como barreiras, permitindo os processos de permeabilidade intestinal de nutrientes, mas restringindo a penetração de patógenos (KINUGASA et al., 2000). Estima-se que cerca de 70% do sistema imune das aves esteja no TGI buscando constantemente manter o equilíbrio para melhor proteger essa região vital (RUTZ et al., 2015). A mucosa intestinal é também constituída por tecido linfóide que representa o maior *pool* de células de defesa do organismo (20% a 40% são linfócitos B e 40% a 60% são linfócitos T) que promove uma resposta inflamatória local, evitando a invasão de tecidos por organismos patogênicos (SANSONETTI, 2006).

A digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes são processos dependentes da manutenção da saúde da mucosa intestinal. As lesões causadas em enterócitos, pela espoliação decorrente a infecção por parasitos, vírus ou bactérias como pelo aporte de nutrientes e maior gasto energético pelo animal, para produção de células de defesa e/ou para recuperação do epitélio lesionado podem impactar negativamente a função intestinal (BOROSKY, 2012)

2.2.1 Processos de Reparação e de Regeneração da Mucosa Intestinal.

A avicultura comercial se caracteriza pela alta intensidade produtiva e pela constante evolução de fatores que permitem melhores resultados a cada ano. Frangos de corte apresentam alto desempenho e tanto a saúde intestinal quanto a integridade morfofuncional do sistema digestório são de fundamental importância neste contexto, pois envolvem várias funções fisiológicas, microbiológicas e físicas, que de forma conjunta mantem a homeostase intestinal (KOGUT, 2019) e os processos de digestão e absorção de nutrientes e a defesa local (MAIORKA, et al., 2000; SMITH, 1990).

Ao mesmo tempo, a plasticidade desse sistema em responder de forma adaptativa a agentes externos presentes na dieta mostra ser possível uma manipulação de suas características morfofuncionais a favor de uma maximização das áreas de digestão e absorção e no seu sistema de defesa (BOLELI et al., 2008). O muco associado ao epitélio intestinal possuem a capacidade de impedir que substâncias indesejáveis como microrganismos e toxinas presentes no lúmen intestinal atravessem a mucosa e atinjam tecidos e órgãos.

Sob condições normais o animal utiliza cerca de 20% da energia bruta consumida apenas para a manutenção do epitélio intestinal. Em casos de quaisquer danos teciduais, a

exemplo do que pode ocorrer em desordens entéricas como quadros de enterites, os tecidos intestinais lesionados geram redução da quantidade de substrato digerido e absorvido pelo animal, além de resultar em maior demanda energética para a renovação celular e menor saldo de energia líquida para produção (FRANCO, 2010; McBRIDE & KELLY, 1990). De acordo com Hafez (2009), as desordens entéricas podem ser causadas por diversos agentes patogênicos (vírus, bactérias e parasitas) associados com outros microrganismos ou com algumas causas não infecciosas como alimentos e manejo podendo afetar consideravelmente os resultados e a qualidade dos produtos.

O ciclo total de criação das aves de corte tem reduzido anualmente. Comumente as agroindústrias conseguem obter lotes com resultados de ganho de peso diário (GPD) superiores a 70g por dia ultrapassando o peso de 3,0kg de peso vivo por ave em menos de 45 dias de criação. Fisiologicamente todos os sistemas precisam suplantar esse ritmo de crescimento para que as aves possam expressar o potencial genético. No que diz respeito ao TGI, é necessário que este sistema esteja íntegro para que a renovação, regeneração e maturação celular sejam ajustadas à necessidade de desenvolvimento em cada fase.

O processo de renovação celular da mucosa intestinal, também chamado de *turnover* celular, é contínuo e se dá pelo equilíbrio entre os processos de proliferação e diferenciação celular bem como pela perda de células por descamação (UNI, 2000).

Este processo é complexo e dependente da idade da ave (quanto mais jovem, menor é o tempo de *turnover*). Segundo Murarolli (2008), o completo *turnover* celular pode variar de 24 a 96 horas, o que significa até 9,5% do tempo de vida de um frango de corte convencional no modelo de abate brasileiro. Furlan (2010) já mencionava que as reduções de ganho de peso em situações em que o lote de frangos precisa se recuperar de uma lesão podem chegar a 5 toneladas de carne considerando um lote de 20 mil frangos. Portanto, o intestino é um órgão metabolicamente dispendioso e extremamente afetado se a ingestão de nutrientes for diminuída ou se a mucosa intestinal for exposta aos antígenos provenientes de alimentos, bactérias residentes e microrganismos invasores (WITTIG; ZEITZ, 2003).

A múltipla interação entre os mecanismos de defesa da mucosa intestinal e a sua constante remodelação, tem estabelecido uma influência direta da nutrição neste processo. Alguns nutrientes da dieta podem influenciar de forma positiva a capacidade de renovação da mucosa intestinal, pois modificam sua estrutura e metabolismo, resultando em melhora da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes pelas aves. Essas substâncias são consideradas agentes tróficos capazes de estimular o processo mitótico e, como

consequência, aumentar o número de células e o tamanho dos vilos (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2008).

Como visto, o TGI é extremamente dinâmico e isso se faz necessário em função da velocidade de crescimento do atual frango de corte. Assim, em caso de necessidade de quaisquer reparos na barreira epitelial intestinal após lesões e/ou danos fisiológicos, estes devem ser realizados o mais breve possível para evitar maior comprometimento à saúde do animal.

Atualmente, é sabido que o processo de restabelecimento da integridade da mucosa intestinal após sofrer uma lesão ocorre por pelo menos três mecanismos distintos: 1º) Restituição: resposta imediata do organismo que já ocorre em questão de minutos ou horas após o dano. Células epiteliais próximas migram para a área lesionada na tentativa de recobrir o local (SVANES *et al.*, 1982) não requerendo a proliferação de outras células. 2º) Proliferação de novas células: em função de haver comprometimento do tecido, há perda de função. O organismo, ao detectar essa necessidade de reposição, ativa as células basais (tronco), localizadas nas criptas intestinais, as quais são responsáveis pela renovação celular dos enterócitos (UNI, 2006). 3º) Fase de maturação celular: as novas células precisam estar aptas (maduras) para poderem desempenhar suas funções na mucosa intestinal. Em caso de presença de enterócitos imaturos, com baixa capacidade absorptiva, bem como reduzida atividade das enzimas na bordadura em escova pode haver comprometimento da capacidade de absorção de nutrientes levando a menor desempenho produtivo (PORTER JÚNIOR, 1998).

A demanda de energia e de tempo para que os processos de restituição aconteçam, são totalmente dependentes da gravidade do desafio entérico e da disponibilidade de nutrientes localmente. Em situações de estresse ou extenso grau de lesão tecidual, normalmente há redução da altura das vilosidades por haver aumento na taxa de descamação epitelial, levando ao incremento da profundidade da cripta. Esse efeito em cascata ocorre, pois o organismo animal está buscando assegurar a adequada taxa de *turnover* celular e acelerar a reposição das células perdidas na região apical das vilosidades. Outra consequência importante nesse quadro é a possível redução da área de absorção. A área de absorção é dependente do número de células que compõe os vilos e do tamanho de cada vilos. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilos, e por consequência, maior é a área de absorção de nutrientes. A maior relação vilos/cripta está associada com o equilíbrio entre a renovação e a proliferação celular (JEURISSEN *et al.*, 2002), o melhor

estado de saúde intestinal (VIOLA; VIEIRA, 2007) e a melhor absorção de nutrientes devido às menores perdas energéticas com renovação celular (GUERRA, 2018).

Além dos processos fisiológicos relacionados a proliferação, migração, diferenciação, maturação e, até mesmo, a regeneração da mucosa do epitélio intestinal há uma variedade de fatores, incluindo nutrientes no lúmen intestinal, hormônios gastrointestinais tróficos, fatores de crescimento e citocinas (MARSHMAN *et al.*, 2002) que podem beneficiar os processos em questão. A composição da dieta, a microbiota, assim como a interação entre estes fatores podem afetar o desenvolvimento intestinal, a arquitetura da mucosa e a composição do muco do trato gastrintestinal (LAN *et al.*, 2005).

Diante do exposto, fica evidente a importância do conhecimento dos processos fisiológicos e a relação com a saúde intestinal visando à expressão do máximo potencial zootécnico dos frangos de corte. Considerando que a ração representa 75% ou mais dos custos de produção, a integridade dos mecanismos digestivos e absorptivos dos nutrientes no trato digestivo é de vital relevância para o bom desempenho das aves e a lucratividade da cadeia avícola.

2.3. MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

O sistema gastrointestinal das aves é composto por diferentes estruturas cada qual responsável por distintas funções que se complementam mantendo a homeostasia corporal. Digestão e absorção de nutrientes, funções endócrinas e ligadas ao sistema imune das aves são alguns dos exemplos de atividades que ocorrem simultaneamente no ambiente intestinal. No entanto, não apenas por órgãos, glândulas e estruturas celulares que o TGI é composto. Ao longo de muitos anos e através de diversos estudos, a microbiota intestinal tem ganhado cada vez mais importância, pois novas e relevantes informações sobre este conteúdo têm sido geradas.

Corresponde à microbiota intestinal o conjunto de microrganismos comensais do TGI que vivem em harmonia com o seu hospedeiro. Estes indivíduos que habitam e compõem o ambiente intestinal exercem fundamental papel na manutenção da homeostasia deste ambiente. Eles auxiliam no controle de patógenos, bem como promovem renovação e maturação epitelial, manutenção da motilidade intestinal e a absorção dos nutrientes oriundos da dieta fornecida aos animais (KOGUT, 2019) configurando em uma relação de simbiose entre o hospedeiro e estes agentes.

Como mencionado, o uso de antibióticos na cadeia de produção animal tem sofrido crescentes restrições nos últimos anos, seja na forma de melhoradores de desempenho ou para uso terapêutico. Sabe-se que os antibióticos exerceram e exercem importante papel no controle de patógenos, mas o seu uso indiscriminado pode gerar efeitos adversos. Assim, se faz necessário, através de novas metodologias de trabalho, o estabelecimento de uma microbiota benéfica em detrimento à patogênica, visto sua influência sobre diversos processos metabólicos do organismo do animal. Bactérias como *Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Clostridium*, quando em situação de equilíbrio, não são prejudiciais ao organismo da ave, mas podem causar consideráveis danos em caso de disbiose (TAMMA, 2017; CELI, *et al.*, 2019).

Além do uso ou não de antibióticos, outros fatores podem afetar a microbiota intestinal. Dietas, programas de vacinas e controle de problemas sanitários, manejo, qualidade de ovos férteis e do processo de incubação, condições ambientais que levem as aves a um quadro de estresse térmico contribuem de forma significativa sobre a composição da microbiota intestinal das aves. Logo, ter conhecimento preciso sobre o funcionamento do sistema gastrointestinal destes animais, sua necessidade nutricional, tempo e quantidade ideal para a inserção dos alimentos e principalmente os mecanismos essenciais para o reestabelecimento da microbiota intestinal são cruciais no contexto atual (LARA, 2015).

Applegate *et al.*, (2010), mencionam que no caso de animais saudáveis há o desenvolvimento de uma microbiota equilibrada a qual não gera superestímulo do sistema imunológico que possui alto custo em termos de demanda energética, mas crucial para combater patógenos. Segundo Bortoluzzi *et al.* (2019), ainda há muitas informações relevantes que precisam ser entendidas em razão da complexidade da microbiota intestinal de frangos de corte sendo importante entender o comportamento da microbiota intestinal em diferentes momentos e seções do TGI bem como suas consequências sobre a intrínseca relação que há entre os microrganismos e o hospedeiro.

Adaptações constantes das estratégias e do modelo de criação dos animais são necessárias para buscar melhores resultados bem como atender os anseios do consumidor. Além disso, com o passar do tempo, novas legislações surgem e tornam necessários novos modelos de trabalho. Nesse contexto, também está inserido o melhor entendimento sobre a microbiota intestinal bem como dos fatores que podem afetá-la visto que diferentes tecnologias podem ter a capacidade de beneficiar a composição da microbiota e a qualidade dos produtos de origem animal.

Corrigan *et al.*, (2017) avaliaram os efeitos do uso de frações ricas em manose sobre os níveis de colonização cecal por *Campylobacter* em frangos de corte. Os resultados mostraram que foi possível modular a microbiota intestinal de frangos de corte alterando o perfil bacteriano no ceco das aves a ponto de não encontrarem *Campylobacter*, que é um importante agente bacteriano causador de problema entérico em humanos, nas aves que foram alimentadas com as frações ricas em manose. Freitas, em pesquisa recente (2020) realizada com consumidores, avaliou que a percepção do consumidor brasileiro, além de preço, os produtos avícolas devem respeitar o bem-estar animal, o meio ambiente e que sejam mais saudáveis indo ao encontro do estudo de Corrigan no que diz respeito sobre a qualidade de produtos e a relação direta com a saúde humana.

2.4. SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

A sanidade dos lotes é um dos mais importantes pilares de sustentação da avicultura. Lotes acometidos por alguma intercorrência sanitária tendem a apresentar perdas produtivas e financeiras. Comprometimento da produtividade, retardo do crescimento dos animais, redução de viabilidade dos plantéis e diminuição de valor pago ao produtor são alguns dos impactos negativos que podem ocorrer nessas situações.

Investimentos em instalações, práticas de manejo, implantação de um programa de biossegurança eficaz, alta qualidade de matérias-primas e rações, entre outros, permitem melhor controle sobre aspectos sanitários dos rebanhos e, conseqüentemente, agregam valor ao sistema de produção.

Especificamente sobre a saúde intestinal dos frangos de corte, importante ressaltar que, em razão da estruturação, o intestino é formado por extensa área de contato para digestão e absorção de nutrientes, mas também acaba por conectar os meios interno e externo se constituindo em um importante local de interações entre ambos. No entanto, para que isso aconteça adequadamente os animais devem apresentar um trato gastrointestinal (TGI) saudável entendendo-se por saúde gastrointestinal como sendo a ausência de enfermidades que possam lesar e/ou causar inflamação do TGI ou induzir comprometimento de sua função secretória, digestiva, absorptiva ou peristáltica (ITO *et al.*, 2004).

Segundo Gaskins (2001) e McBride & Kelly (1990), apesar de representar apenas 5% do peso corporal da ave, a demanda de nutrientes para a manutenção do TGI em animais hígidos é considerável (cerca de 15 a 30% de todo O₂ e, aproximadamente, 20% da energia metabolizável consumida para renovação e regeneração celular). Nos casos de disbiose ou

mesmo a ocorrência de um problema sanitário mais severo, essa demanda por nutrientes passa a ser muito maior comprometendo consideravelmente o desenvolvimento dos animais.

O sistema imunológico (SI) intestinal saudável detém cerca de 70% das células do sistema imune para dar suporte e proteção (GUARNER, 2006) e é composto por uma camada mucosa, células epiteliais conectadas firmemente, anticorpo solúvel liberado (IgA) e peptídeos antibacterianos (YITBAREK *et al.*, 2019).

Os epitélios intestinais adjacentes apresentam junções celulares firmes (*tight junctions*) que são essenciais para a função da barreira intestinal física, regulando o movimento para celular de várias substâncias, incluindo íons, solutos e água através do epitélio intestinal. Essa característica confere ao epitélio intestinal a capacidade de impedir que substâncias indesejáveis como microrganismos e toxinas presentes no lúmen intestinal atravessem a mucosa e atinjam tecidos e órgãos (LEE *et al.*, 2018).

Em razão desta complexidade e importância que há no papel do TGI, é consenso de que o intestino não é mais reconhecido apenas pela sua importante função associada aos processos de digestão e absorção, mas também pelo importante papel que desempenha na modulação da homeostasia física intestinal e imunológica na defesa contra as agressões do meio externo (GUARNER, 2006; GUO *et al.*, 2020) refletindo diretamente na saúde e desempenho dos animais.

2.5. USO DE ADITIVOS ALIMENTARES EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

A instrução normativa nº 44, de 15 de dezembro de 2015 do ministério da agricultura pecuária e abastecimento define aditivo como substância, micro-organismos ou produto formulado, adicionado intencionalmente, que não é utilizada normalmente como ingrediente, tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais (MAPA, 2015).

Como é sabido, a avicultura industrial, no Brasil e em diversos outros países, ocupa posição de destaque por características intrínsecas ao setor, bem como pela constante inserção de novas tecnologias que permitem a contínua busca pela evolução dos resultados de campo. Ao longo do tempo, diversos fatores contribuíram para que a indústria avícola pudesse obter a alta produtividade atual e, sem dúvidas, o uso de aditivos alimentares nas dietas avícolas apresenta papel fundamental neste contexto.

É considerado um aditivo alimentar para uso em dietas animais todas as substâncias as quais, quando adicionadas às rações, são capazes de melhorar o desempenho animal e/ou as características físicas dos alimentos. Dentre as diversas linhas de aditivos alimentares algumas têm merecido especial destaque nos últimos anos como, por exemplo, os ácidos orgânicos, antibióticos, enzimas exógenas, minerais orgânicos, probióticos, probióticos, simbióticos, entre outros, em razão de que podem auxiliar na obtenção de melhor desempenho animal, nos parâmetros de saúde animal e/ou possibilitar maior utilização de ingredientes alternativos (AHSAN *et al.*, 2018).

A suplementação das dietas animais com aditivos alimentares é feita baseada em critérios definidos pelos técnicos das agroindústrias os quais levam em consideração os possíveis ganhos zootécnicos, custos de produção, legislações, efeitos sobre a saúde animal e sobre a qualidade da produção animal em questão. Esses aditivos geralmente são aplicados de maneira individualizada durante o processo de fabricação das rações. No entanto, com o desenvolvimento de novos estudos e produtos com maior tecnologia empregada, atualmente as agroindústrias estão buscando, maior frequência, o uso de *blends* de aditivos. O uso dos *blends*, desde que sejam equilibradamente formulados, traz maior praticidade e segurança ao processo fabril à medida que minimiza a quantidade de aplicações nas batidas de ração podendo também ser economicamente mais viáveis do que os aditivos isolados. Com relação ao efeito na criação animal, o uso de *blends* de aditivos alimentares pode também apresentar benefícios, pois diferentes aditivos irão atuar no trato digestivo dos animais de modo sinérgico, ampliando os benefícios ao desempenho e saúde animal.

2.5.1 Antibióticos

A penicilina, foi descoberta por Alexander Fleming em 1928 sendo considerada o primeiro antibiótico identificado. Em 1940, foi feita a primeira prescrição de antibacterianos para o controle de infecções graves tornando possível o tratamento de doenças que até então eram responsáveis por altas taxas de mortalidade. A penicilina foi bastante utilizada também na Segunda Guerra Mundial para combater infecções e auxiliar na recuperação de enfermos, porém, devido ao uso do antibiótico em larga escala, surgiram por volta de 1950, os primeiros casos de resistência bacteriana (KENNEDY, 2004).

O termo antibiótico foi adotado por Waksman, em 1945, quarenta e nove anos após a primeira evidência de que substâncias produzidas por fungos tinham a capacidade de inibir

o crescimento bacteriano. Por definição, consideram-se antibióticos as substâncias sintetizadas por microrganismos ou produzidas em laboratórios a partir de um princípio ativo sintetizados por fungos ou bactérias e que têm ação antimicrobiana (WALSH, 2003).

O uso dos antibióticos na alimentação dos animais foi descoberto em 1948 durante estudos de identificação e isolamento da vitamina B₁₂ em culturas fúngicas. Em razão de que havia evidências positivas do uso de antibióticos em baixas dosagens como promotores de crescimento o Food and Drug Administration dos EUA, em 1951, aprovou o seu uso na alimentação animal sem prescrição veterinária (GONZALES, et al., 2012). Com isso, além do uso terapêutico, os antibióticos passaram a ser usados para manter a qualidade do ambiente do trato digestório de animais de produção através do uso contínuo em rações, mas com doses e concentrações menores do que as administradas como profilaxia ou terapia.

Os efeitos da melhoria do desempenho zootécnico decorrem da ação dessas substâncias no trato digestório sobre a microbiota intestinal, que diminui a competição por nutrientes e reduz a produção de metabólitos que deprimem o crescimento dos animais. Além disso, promovem a redução no tamanho e peso do trato digestório, tornando mais finas as vilosidades e parede intestinais, em decorrência da redução de ácidos graxos de cadeia curta e poliaminas produzidos pela fermentação microbiana. Com essa indicação, como aditivo alimentar, esses produtos foram denominados como antibióticos melhoradores do desempenho (AMD) animal e são indicados para melhorar a saúde e a resistência a doenças, proporcionar maior produtividade e crescimento animal, além de melhorar a utilização da dieta (CHATTOPADHYAY, 2014).

Como o passar dos anos, novas linhas de interpretação sobre o uso dos antibióticos e a relação existente entre a produção animal, consumo humano de produtos de origem animal e saúde pública passaram a questionar o uso destes aditivos alimentares nas rações por haver possibilidade de gerar bactérias resistentes, causar hipersensibilidade em humanos e dificultar a resolução de tratamentos de humanos enfermos (SANTOS, 2016).

Com isso, novas legislações passaram a vigorar no mercado global, restringindo o uso de antibióticos melhorados de desempenho (KAHN, 2017; SALIM et al., 2018) e, atualmente, são poucos os antibióticos que têm permissão para uso nas rações de animais monogástricos aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil.

O uso de antibióticos melhoradores de desempenho tem um papel importante na história da nutrição e saúde dos animais monogástricos, principalmente aves e suínos, mantendo o tipo e número de bactérias benéficas no trato digestório equilibrado (FRAGA et

al., 2007). Como, ao longo do tempo, os AMDs foram sofrendo restrições de uso, novos protocolos de pesquisa científica passaram a ser propostos nos centros de estudos. A exemplo disso há pesquisas com diferentes moléculas de AMDs, distintas associações de AMD com diferentes aditivos alimentares bem como o uso isolado de aditivos não antibióticos que possam apresentar potencial de substituição ao uso de AMD e manter elevada a saúde dos plantéis e viabilidade econômica na produção animal.

2.5.2 Ácidos orgânicos

Como contexto geral, os ácidos orgânicos constituem naturalmente tecidos vegetais e animais e alguns podem ser formados através da fermentação microbiológica no intestino e outros nas rotas metabólicas intermediárias (LEHNINGER *et al.*, 1993).

Considera-se como sendo ácido orgânico todos os ácidos carboxílicos orgânicos, incluindo ácidos graxos e aminoácidos de estrutura geral R-COOH. Entretanto, nem todos esses ácidos orgânicos têm efeitos sobre a microbiota intestinal. Os ácidos orgânicos associados à atividade antimicrobiana são os ácidos de cadeia curta (C1 – C4) e os ácidos orgânicos de cadeia média (C6 – C12). No grupo dos ácidos orgânicos de cadeia curta estão, principalmente, o ácido acético, benzoico, butílico, cítrico, fórmico, fumárico, láctico e propiônico (RICKE, 2003). Compõe o grupo de ácidos orgânicos de cadeia média (mais de 6 carbonos) com efeito antimicrobiano o cáprico, caprílico, capróico e láurico (MROZ & PARTENEN, 2002; DIERICK *et al.*, 2002; VAN IMMERSEEL *et al.*, 2006).

O agronegócio, em diferentes áreas, faz uso dos ácidos orgânicos há algumas décadas. Conservação de matérias-primas, alimentos, rações, palatabilizantes, entre outros, são algumas das possibilidades de uso dessa gama de produtos.

Desde a década de 1960, estudos com ácidos orgânicos em leitões já indicavam resultados interessantes como o controle de diarreia pós-desmama pela redução de *E. coli* hemolítica e melhoria na taxa de crescimento e redução nos casos clínicos de diarreia. Maior ganho de peso e melhor conversão alimentar também foram resultados atribuídos a melhora da digestibilidade dos ingredientes com o uso de ácidos orgânicos. Na década de 80, pesquisas de métodos de preservação de cereais colhidos com alto teor de umidade demonstraram que o uso de ácidos prolonga o período de armazenamento melhorando a conservação, especialmente, frente à colonização por fungos. Ao ser comparado o valor nutritivo do milho preservado com ácido orgânico e com aquele preservado por outros

métodos, foi verificado um maior desempenho de animais alimentados com milho tratado com ácido. Tais resultados motivaram a realização de pesquisas para testar os referidos ácidos como melhoradores de desempenho (TEIXEIRA, 1997).

Como visto, na suinocultura, os ácidos e sais orgânicos já são usados a bastante tempo e na avicultura, o uso é mais recente, no entanto, muitos estudos têm sido desenvolvidos nos últimos anos e isso tem permitido melhor conhecimento (McCARTNEY, 2008) sobre o modo de ação, eficácia e consequências do uso destes produtos a campo.

Piva *et al.*, (2007), mencionam que o uso de ácidos orgânicos pode auxiliar na manutenção e/ou melhoria da qualidade intestinal e podem contribuir na busca por melhores resultados produtivos podendo inclusive ter o seu uso proposto em conjunto ou como alternativa à utilização dos AMD. Os ácidos orgânicos podem proporcionar efeito antimicrobiano específico à semelhança dos antibióticos, principalmente no caso dos ácidos orgânicos de cadeia curta e média, podendo ser particularmente efetivos contra *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* e *Campylobacter jejuni*.

Existem inúmeras hipóteses quanto aos mecanismos de ação dos acidificantes: alteração da microbiota intestinal por ação bactericida ou bacteriostática, redução do pH estomacal (suínos) ou do papo (aves), melhor atividade de enzimas, melhor digestibilidade e retenção de nutrientes (MAIORKA *et al.*, 2004). A atuação dos ácidos orgânicos depende também da apresentação. Eles podem se apresentar na forma não dissociada (RCOOH) ou dissociada (RCOO), determinada pela constante de dissociação (pKa) que é específica para cada ácido. O pKa de cada ácido é a medida de quando este se encontra 50% dissociado e 50% indissociado em solução aquosa com o mesmo valor de pH. Quanto mais próximo o valor de pKa a 1 mais forte é o ácido (VILAS BOAS, 2014).

Com relação a apresentação dos ácidos orgânicos para uso na alimentação animal estes produtos podem ser encontrados na forma livre ou protegida (micro encapsulada). Inicialmente, os ácidos orgânicos eram fornecidos na forma livre, porém com o desenvolvimento de novas tecnologias e pesquisas, atualmente o micro encapsulamento destes produtos representa uma parcela significativa do mercado.

A oferta de ácidos orgânicos micro encapsulados (e, provavelmente outros produtos também) tende a crescer significativamente nos próximos anos, uma vez que este método proporciona maior estabilidade e vida útil ao produto, menor interação/reação com demais componentes das rações. Além disso, ao se empregar a tecnologia de micro encapsulamento aos ácidos orgânicos e conhecendo o material utilizado para a implementação essa tecnologia, obtém-se outras vantagens como a liberação controlada do princípio ativo de

acordo com o pH intestinal e o efeito prolongado do produto ao longo de diferentes áreas do intestino animal interagindo como o meio e com a microbiota intestinal.

No conceito de uso de ácidos orgânicos para dietas de frangos de corte o ácido butírico, juntamente com o sal estável, butirato de sódio, tem ganhado especial destaque por ser um ácido orgânico de cadeia curta, fonte de energia para a mucosa intestinal das células epiteliais cecais e do cólon, aumentando assim a taxa de proliferação celular e absorção de nutrientes da ração. Além disso, proporciona melhor funcionamento fisiológico e equilíbrio do microbioma intestinal (QAISRANI *et al.*, 2015; BORTOLUZZI *et al.*, 2017) resultando em melhoria da saúde intestinal e do desempenho produtivo (BORTOLUZZI *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2018). Apresenta a capacidade de modular a flora bacteriana favorecendo as bactérias benéficas e reduzindo o colonização de bactérias nocivas no trato digestivo (AHSAN *et al.*, 2016) podendo ser utilizado como substituto aos AMD devido à sua característica multifuncional.

O butirato de sódio em comparação com o ácido butílico tem tido a preferência de uso em razão de ser sólido, mais estável e causar menos desconforto ao colaborador que irá dosar o produto por ter odor menos intenso. Além disso, o butirato de sódio pode ser utilizado nas formas livre ou protegida (microencapsulada). Na forma não protegida atuará na parte proximal do trato digestivo (BOLTON; DEWAR, 1965; HUME *et al.*, 1993; THOMPSON; HINTON, 1997), já, enquanto microencapsulado, irá atuar na porção posterior do trato gastrointestinal (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004).

Estudos mostraram ainda que os efeitos do butirato podem também ser associados ao controle de patógenos intestinais de frangos de corte, como *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e modulação da população de *Lactobacillus* (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004; TIMBERMONT *et al.*, 2010). O butirato de sódio pode ainda reforçar a barreira de defesa, aumentar a produção de mucinas (SIKANDAR *et al.*, 2017), beneficiar a morfologia intestinal (SENGUPTA *et al.*, 2006), promover absorção de água e sódio (BOND; LEVIT, 1976), reduzir o pH e modular a microbiota intestinal e o sistema imune.

Em virtude das mudanças de comportamento e exigências do mercado consumidor no cenário global bem como pela busca constante de evolução nos resultados produtivos, é fundamental a continuidade de estudos com aditivos alimentares que possam substituir os AMD, bem como pelo fato de poder auxiliar na busca por melhores resultados produtivos. Nesse contexto, a aceitabilidade dos ácidos orgânicos e o crescente conhecimento técnico sobre esses produtos fortalecem a tendência de uso na cadeia avícola.

2.5.3 PREBIÓTICOS

Os aditivos alimentares prebióticos, por definição, são classificados como carboidratos indigestíveis e considerados fibras funcionais que não sofrem a degradação por ação enzimática não sendo digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de animais não ruminantes. Além disso, não são digeríveis por bactérias patogênicas, trazendo efeito positivo ao hospedeiro de modo indireto, pois estimulam, seletivamente, o crescimento e/ou atividade de um limitado número de microrganismos benéficos (*Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, por exemplo) no cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995) promovendo o efeito bifidogênico.

Em 2010, a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) determinou que “Prebióticos alimentares são ingredientes seletivamente fermentados, que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, assim proporcionando benefícios para a saúde do hospedeiro” (BINNS, 2014; GIBSON et al., 2010). Acerca da especificidade, mecanismos de ação, efeitos sobre a saúde e sua relevância, em 2017, a ISAPP propôs a mais recente definição para prebiótico: “é um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros, conferindo benefícios à saúde” (GIBSON et al. 2017).

Para ser considerada como uma substância prebiótica da microbiota intestinal, o produto deve ser resistente à degradação pelo ácido estomacal, enzimas ou hidrólise; sofrer fermentação por microrganismos intestinais; estimular de forma seletiva a multiplicação e atividade de microrganismos benéficos no intestino. Para avaliar e validar a ação prebiótica de um composto, é necessário realizar diferentes testes *in vitro* e *in vivo* (SERRANO, 2017).

Dentre as funções relacionadas aos prebióticos, podem ser destacadas o efeito sobre a multiplicação de microrganismos comensais como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, além de melhorar a motilidade intestinal e o esvaziamento gástrico, imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas no intestino (BRITO et al., 2014). A ação prebiótica implica na conformação de um ambiente favorável a microrganismos prebióticos, os quais são capazes de produzir, através de processo de fermentação bacteriana, ácidos graxos de cadeia curta como o butirato, além de algumas vitaminas e outros nutrientes (WARRANT et al., 2006). Esse estímulo intestinal seletivo tende a proporcionar um ambiente saudável melhorando, de modo geral, a saúde intestinal da ave.

Na avicultura comercial, a adição de prebióticos nas dietas é amplamente utilizada. Os prebióticos mais comumente utilizados são os oligossacarídeos de cadeias curtas de

açúcares simples, especialmente os Frutoligosacarídeos (FOS), Galactoligosacarídeos (GOS) e Mananoligosacarídeos (MOS). Os FOS e GOS possuem mecanismos similares de atuação, que servem de substratos para as bactérias benéficas, favorecendo seu desenvolvimento em detrimento às bactérias patogênicas. São encontrados em plantas e vegetais. Já os MOS são derivados de parede celular de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), não são digestíveis por serem constituídos de complexos de oligomanoproteínas, os quais possuem capacidade de se ligarem às fímbrias de determinadas bactérias e inibir a colonização intestinal (PESSÔA *et al.*, 2012).

Com relação ao efeito das β -Glucanas, este é diretamente ligado ao tipo de ligações (β - 1,3; 1,4 ou 1,6). Há uma grande quantidade de macrófagos presentes na mucosa intestinal, e estes reconhecem as ligações 1,3 e 1,6 das β -glucanas da parede celular de levedura, iniciando então uma reação em cadeia no sistema imune inato, aumentando a imunidade do hospedeiro contra agentes infecciosos e auxiliando na resistência à infecção (NETEA *et al.*, 2011).

O uso de prebióticos como o MOS nas dietas de animais de produção tem importante atuação contra patógenos e, em razão disso, seu uso tem sido cada vez mais significativo na busca das agroindústrias por ferramentas que possam substituir os AMD ou mesmo trabalhar de modo sinérgico junto a eles. Moléculas de MOS podem agir como aglutinantes de bactérias patogênicas que apresentam determinadas fímbrias de adesão sendo o caso de algumas cepas de *Salmonella* e *E. coli*. (DELANEY *et al.*, 2021). Essas bactérias, quando presentes na luz intestinal se aderem às estruturas do prebiótico e não ao epitélio intestinal e acabam sendo carregadas para fora do corpo. No caso de *Campylobacter*, por exemplo, o efeito antibacteriano é diferente. Através do uso de prebióticos pode ocorrer a modulação da microbiota benéfica, a qual passa a produzir determinados produtos como o butirato e o ácido láctico, os quais alteram o meio ambiente em questão. Essa modulação e alteração do microambiente intestinal desfavorecendo a microbiota patogênica (CORRIGAN *et al.*, 2017). Sendo assim, a associação de MOS/ β -glucanas pode atuar de duas formas: seja pela aglutinação das bactérias patogênicas, impedindo que estas se multipliquem e iniciem um processo infeccioso; e modulando e preparando o sistema imune para se defender melhor e mais rápido contra um processo infeccioso.

2.5.4 PROTEINATO DE ZINCO

As dietas formuladas para as aves de corte são compostas por ingredientes e aditivos para que estes animais de alto desempenho possam expressar o máximo potencial genético desde o desenvolvimento embrionário até o abate. Entretanto, boa parte destas substâncias não é sintetizada pelo organismo da ave ou então é produzida em baixas quantidades sendo necessária a suplementação através da dieta.

Os minerais são um dos exemplos de substâncias consideradas como nutrientes essenciais na formulação de rações para aves comerciais, pois o animal não é capaz de sintetizá-los. Os minerais utilizados na formulação das dietas animais estão, em boa parte, apresentados na forma inorgânica e, geralmente os valores de inclusão são maiores que a exigência nutricional da espécie, já que estas fontes são menos estáveis estruturalmente e menos biodisponíveis, além de interagirem com fatores antinutricionais (NRC, 2011). Porém, o desenvolvimento de diversas pesquisas científicas e trabalhos de campo vêm mostrando importantes contribuições do uso dos minerais na forma orgânica, os quais são mais estáveis estruturalmente e têm maior biodisponibilidade, resultando em melhor absorção e metabolização (MILES; HENRY, 2000).

Chegando no TGI os minerais devem ser inicialmente solubilizados para liberarem íons e serem absorvidos. No entanto, estando na forma iônica (com carga elétrica) os minerais podem se complexar com outros componentes da dieta, dificultando a absorção ou, se completamente complexado, tornando-os indisponíveis aos animais. Nesse caso, ele será eliminado nas excretas e esse é um dos temas também de grande relevância: o impacto ambiental causado pelos sistemas de produção animal o qual deve ser sempre minimizado. Em razão desses aspectos tem havido maior interesse e uso de minerais na forma orgânica, frequentemente descritos como proteinatos. Algumas razões indicam os benefícios dos minerais orgânicos: maior biodisponibilidade e absorção intestinal, boas respostas zootécnicas e sanitárias bem como aspectos ligados a melhor qualidade de produtos de origem animal (ROSTAGNO *et al.*, 2017).

Os minerais são divididos em macro e microminerais de acordo com a quantidade requerida de cada um na dieta. Os macrominerais (enxofre, potássio, cálcio, magnésio, fósforo, sódio e cloro), principalmente atrelados às funções fisiológicas e metabólicas, são requeridos em maiores quantidades (MARQUES *et al.*, 2016). Já os microminerais ou microelementos ou ainda elementos traço (ferro, cobre, manganês, zinco, níquel, cobalto, selênio, cromo, molibdênio, estanho, flúor, iodo, sílica, vanádio e arsênico) são considerados

como essenciais em função de serem requeridos em menores quantidades (HORACIO *et al.*, 2017). Ao *et al.* (2017) mencionaram que, embora sejam baixos os requerimentos dos microminerais, eles são de extrema importância ao organismo, pois atuam em importantes funções metabólicas, reprodutivas e de crescimento, tem papel importante na catálise e atividade enzimática.

Um dos microelementos de maior importância na nutrição de aves é o zinco. Esse microelemento desempenha papel fundamental como componente estrutural, influencia na resposta imunitária celular e humoral, crescimento, manutenção das penas e mucosas, além de atuar como cofator em diversas enzimas do organismo. Em se tratando da participação no sistema de defesa antioxidante o zinco atua como cofator da enzima superóxido dismutase (SOD) que desempenha importante função na prevenção e na redução nos efeitos causados pelo estresse oxidativo além de ser importante para estabilizar membranas celulares (. Além disso, o zinco também atua na regulação da concentração de metalotioneínas, ligadas à eliminação de radicais livres (TAPIERO; TEW, 2003; AO; PIERCE, 2013; NAZ *et al.*, 2016;). Desta forma, diferentes fontes de zinco para frangos de corte têm sido objeto de estudo, em especial as fontes complexadas a moléculas orgânicas, como aminoácidos, proteínas, carboidratos, entre outros (MANANGI *et al.*, 2012; STAR *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2013).

Segundo diferentes pesquisadores, a necessidade quantitativa de inclusão de minerais orgânicos, incluindo o zinco, nas dietas é reduzida em comparação com os minerais inorgânicos. Ao considerarem a concentração de microminerais no sangue, interação com outras moléculas, resultados de desempenho, entre outros, estudos sugerem que os minerais orgânicos são melhor absorvidos do que os minerais que estão na forma inorgânica (SPEARS, 1996; STAR, 2012; ROSTAGNO *et al.*, 2017).

O controle e o entendimento de enterites bem como sua patogênese é fundamental para que os profissionais a campo possam adotar as melhores estratégias de prevenção e controle. Atualmente, estudos científicos necessitam atender a novas diretrizes técnicas, princípios éticos voltados ao respeito e bem-estar animal bem como atender a necessidades comerciais do modelo de criação dos animais de produção. Além disso, de modo geral, o mercado internacional está cada vez mais exigente buscando produtos de melhor qualidade e valor nutricional bem como com maior saudabilidade desde os processos iniciais até à mesa do consumidor.

Neste contexto, a presente tese objetiva propor um modelo de desafio entérico que permita avaliar o desempenho animal, a morfologia e a capacidade regenerativa da mucosa

intestinal, estudar a modulação do microbioma intestinal e a resposta imune das aves alimentadas com um *blend* de aditivos alimentares composto à base de ácido orgânico, levedura hidrolisada e proteinato de zinco para as aves alimentadas com e sem o uso de antibiótico melhorador de desempenho e submetidas ou não ao desafio entérico proposto neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-HACK, M.; ALAGAWANY, M.; ARIF, M.; CHAUDHRY, M.; EMAM, M.; PATRA, A. Organic or inorganic zinc in poultry nutrition: A review. **World's Poultry Science Journal**, 73(4), 904-915. doi:10.1017/S0043933917000769. 2017. <https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/organic-or-inorganic-zinc-in-poultry-nutrition-a-review/0E32A9C2212753B814C97D2D7C599851> . Acesso em: 30 jul. 2021.

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual**: 2021. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf. Acesso em: 22 de outubro de 2021.

AHSAN, U.; KUTER, E.; RAZA, I.; KÖKSAL, B.H.; CENGİZ, Ö.; YLDIZ, M.; KIZANLIK, P.K.; KAYA, M.; TATLI, O.; SEVİM, Ö. (2018). Dietary Supplementation of Different Levels of Phytoenic Feed Additive in Broiler Diets: The Dynamics of Growth Performance, Caecal Microbiota, and Intestinal Morphometry. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. 20(4), out-dez. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbca/v20n4/1516-635X-rbca-20-04-00737.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2021

ALBINO, L.F.T.; FERES, F.A.; DIONIZIO, M.A.; ROSTAGNO, H.S.; J.G.V. JÚNIOR, J.G.V.; CARVALHO, D.C.O.; GOMES, P.C.; COSTA, C.H.R.. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.3, p.742-749, 2006.

ALBORNOZ, L.A.L.; NAKANO, V.; AVILA-CAMPOS, M.J. Clostridium perfringens e a enterite necrótica em frangos: principais fatores de virulência, genéticos e moleculares. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.51, p.178-193, 2014. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v51i3p178-19>.

ALMEIDA, E. Aditivos digestivos e equilibradores da microbiota intestinal para frangos de corte. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 48 f., 2012.

APPLEGATE, T. J.; KLOSE, V.; STEINER, T.; GANNER, A.; SCHATZMAYR, G. 2010. Probiotics and phytogenics for poultry: myth or reality? **J. Appl. Poult. Res.** 19:194–210.

AO, T; PIERCE, J. The replacement of inorganic mineral salts with mineral proteinates in poultry diets. **World's Poultry Sci.**, vol. 69, 5-16, 2013. DOI. 10.1017/S0043933913000019. Disponível em: [https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-](https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/organic-or-inorganic-zinc-in-poultry-nutrition-a-review/0E32A9C2212753B814C97D2D7C599851)

[journal/article/replacementof-inorganic-mineral-salts-with-mineral-proteinates-in-poultrydiets/BFAD7237630C38EB69F6A91C0490FC16](https://doi.org/10.1017/jan.2017.10). Acesso em 01 ago. 2021.

AO, T.; MACALINTAL, L.; PAUL, M.; PESCATORE, A.; DELLES, R.; CANTOR, A.; FORD, M. J.; Dawson, K. (2017). Effects of dietary supplementation of organic minerals on the performance of broiler chicks fed oxidised soybean oil. **Journal of Applied Animal Nutrition**, v. 5, p. 1-5 doi:10.1017/jan.2017.10

BARBOSA, N.A.A.; SAKOMURA, N.K.; OVIEDO-RONDÓN, E.O.; BONATO, M.A.; KAWAUCHI, I.M.; DARI, R.L.; FERNANDES, J.B.K. Mananligossacarídeos em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 41, n. 12, p.2171-2176, 2011.

BARNES, H.J.; GROSS, W.G. Colibacillosis. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W. M.; YODER, Jr, H.W. **Diseases of poultry**. 10th ed. Iowa Sate University Press, Ames, Iowa, p.138-44, 1997.

BELOTE, B.L.; TAJIMOTO-SILVA, A.; HÜMMELGEN, P.H.; SANCHES, A.W.D.; WAMMES, J.C.S.; HAYASHI, R.M.; SANTIN, E. Histological parameters to evaluate intestinal health on broilers challenged with Eimeria and Clostridium perfringens with or without enramycin as growth promoter, **Poultry Science**, Volume 97, Issue 7, 2018, Pages 2287-2294, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pey064>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119303414>)

BINNS, N. Probióticos, Prebióticos e a Microbiota Intestinal. **ILSI Brasil International Life Sciences Institute do Brasil**, p. 33, 2014.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. In: **Anais**. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas, SP,p. 262-74, 2009.

BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Desenvolvimento e Reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M; FURLAN, R. L.; GONZÁLES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 2002, p. 113-23.

BOLELI, I. C.; MAIORKA, A; MACARI, M. 2008. Estrutura funcional do trato digestório. Pag. 75-98. In: Marcos Macari; Renato Luís Furlan; Elisabeth Gonzáles. (Org.) **Fisiologia Aviária Aplicada a frangos de corte** – 2ª ed. Jaboticabal: Funep.

BOLELI, I; THIMOTHEO, M. Estrutura funcional do trato gastrintestinal: da percepção à absorção. In: MACARI, M; MAIORKA, A. (Ed.). **Fisiologia das aves comerciais** 1.ed. Jaboticabal: UNESP, 2017. 234-245.

BOLTON, W.; DEWAR, W.A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. **British Poultry Science**. 6:103-105, 1965.

BOND, J.H; LEVIT, M.D. Fate of soluble carbohydrate in the colon of rats and man. **J. Clin Invest**. 57:1158-1164. 1976.

BOROSKY, J.C. **O uso de ácidos orgânicos e suas particularidades na produção animal**. 2012. Disponível em: <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/acidos-organicos-producao-animal-t36978.htm> Acesso em: 10 out. 2021.

BORTOLUZZI, C.; PEDROSO, A. A.; MALLO, J. J.; PUYALTO, M.; KIM, W. K.; APPELGATE, T. J. 2017. Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. **Poult. Sci.**96:3981–3993.

BORTOLUZZI, C.; VIEIRA, B. S.; HOFACRE, C.; APPELGATE, T. J. Effect of different challenge models to induce necrotic enteritis on the growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens, **Poultry Science**, Volume 98, Issue 7, 2019, Pages 2800-2812, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pez084>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119302093>)

BRITO, J. FERREIRA, A. H. C.; DE SANTANA JÚNIOR, H. A.; ARARIPE, M. DE N. B. DE A.; LOPES, J. B.; DUARTE, A. R.; CARDOSO, E. DE S. V.; RODRIGUES, L. Probiótico, prebiótico e simbiótico na alimentação de não-ruminantes. **Revista Eletrônica Nutrime**, v. 11, n. 4, p. 2525-2545, 2014.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; NAKAGHI, L. S. O.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; ... & HUAYNATE, R. A. R. (2005). Effect of probiotic and prebiotic inclusion in weaned piglet diets on structure and ultra-structure of small intestine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 48, 921-929.

CELI, P.; VERLHAC, V.; PÉREZ C. E.; SCHMEISSER, J.; KLUENTER, A. M. Biomarcadores da funcionalidade gastrointestinal na nutrição e saúde animal. *Rev. Ciência de Tecnologia de Ração Animal*. 250:9-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.012>. 2019.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. PIB Agro CEPEA-USP/CNA, jan/dez 2020. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em: 30 out. 2021

CHACHER, M.F.A.; KAMRAN, Z.; AHSUN, U.; AHMAD, S.; KOUTOULIS, K.C.; QUTAB UD DIN, H.G.; CENGIZ, Ö. Use of mannan oligosaccharide in broiler diets: an overview of underlying mechanisms. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, 2017. DOI: 10.1017/S0043933917000757

CHASSER, K.M.; WILSON, K.M.; BRIGGS, W. N.; DUFF, A. F.; BIELKE, L.R. Comparison of multiple methods for induction of necrotic enteritis in broilers: II. Impact on the growth curve, **Poultry Science**, Volume 98, Issue 11, 2019, Pages 5488-5496, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pez405>. Acesso em: 20 out. 2021

CHATTOPADHYAY, M.K. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. **Frontiers in Microbiology**, v.5, 2014.

CORRIGAN, A; LEEUW, M; PENAUD-FRÉZET, S; DIMOVA, D; MURHY, R. Phylogenetic and Functional Alterations in Bacterial Community Compositions in Broiler Ceca as a Result of Mannan Oligosaccharide Supplementation. **Applied and environmental microbiology**. 81. 10.1128/AEM.04194-14. 2015.

CORRIGAN, A; FAY, B. J.; CORCIONIVOSCHI, N.; MURPHY, R. A. Effect of yeast mannan-rich fractions on reducing *Campylobacter* colonization in broiler chickens, **Journal of Applied Poultry Research**, Volume 26, Issue 3, 2017, Pages 350-357, ISSN 10566171, <https://doi.org/10.3382/japr/pfx002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105661711930114X>)

CROXEN, M.A.; FINLAY, B.B. Mecanismos moleculares de *Escherichia coli* patogenicidade Nature Reviews, **Microbiology** 8, 26-38, 2010.

DAI, D.; NANTHKUMAR, N.N.; NEWBURG, D.S., et al. Role of Oligosaccharides and Glycoconjugates in Intestinal Host Defense. 2000. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.30, p. 23-33.

DALLOUL, R.A.; LILLEHOJ, H.S. (2006) Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert Rev Vaccines** 5(1):143–163. <https://doi.org/10.1586/14760584.5.1.143>

DE CARLI, S.; IKUTA, N.; LEHMANN, F.K.M.; SILVEIRA, V.P.; PREDEBON, G.M.; FONSECA, A.S.K.; LUNGE, V.R. Virulence gene content in *Escherichia coli* isolates from poultry flocks with clinical signs of colibacillosis in Brazil., **Poultry Science**. 2015.

DELANEY, S.; DO, T. T.; CORRIGAN, A.; MURPHY, R.; WALSH, F. Investigation into the effect of mannan-rich fraction supplementation on the metagenome of broiler chickens. **Microbial Genomics**. 2021; 7:000602 DOI 10.1099/mgen.0.000602

DHO-MOULIN, M.; FAIRBROTHER, J.M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). **Veterinary Research**. 1999 Mar-Jun;30(2-3):299-316. PMID: 10367360.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453-463, 2002.

DIERICK, N. A.; DECUYPERE, J. A., MOLLY, K.; VAN BEEK, E.; VANDERBEKE, E. COMBINED use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition. II. In vivo release of MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases; effects on the luminal gut flora and growth performance. **Livestock Production Science**, v. 76, p. 1–16, 2002.

EMBRAPA. Central de inteligência de Aves e Suínos. <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/custos/icpfrango>. Acesso em: 01 ago. 2021.

FERNANDES, J.I.F., TELINI, C., CONTINI, J.P., KOSMANN, R.C., LIMA, E.T., OTUTUMI, L.K., DOURADO, M.R. Probiótico dietético em um modelo de infecção experimental de enterite necrótica em frangos de corte. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, [S.l.], v. 14, p. 157 - 168, fev. 2016. ISSN 2596-2868. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/cienciaanimal/article/view/12566> Acesso em: 07 nov. 2021. doi: <https://doi.org/10.7213/academica.14.2016.17>.

FLEMMING, J. S.; FREITAS, R. J. S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformes* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.41-47, 2005.

FRANCO, L.G. **Medidas adotadas na Nutrição Animal visando à saúde intestinal**. 2010. Nutrition for Tomorrow. Disponível em: <http://s101599.gridserver.com/medidas-adotadas-na-nutricao-animal-visando-asaude-intestinal/> Acesso em: 30/09/2021.

FREITAS, F.L. da C.; ALMEIDA, K. de S.; NASCIMENTO, A.A. DO; TEBALDI, J.H.; MACHADO, R.Z.; MACHADO, C.R. Aspectos clínicos e patológicos em frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*) infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p.16-20, 2008.

FREITAS, D. M.; COLPAS, C. M. D. Análise do perfil do consumidor brasileiro de carne de frango. **Monografia de MBA em Gestão de Negócios**. USP-Esalq, 2020.

GASKINS, H.R. Intestinal bactéria and their influence on swine growth. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. (Ed.) **Swine Nutrition**. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 585-608

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995. DOI 10.1093/jn/125.6.1401.

GIBSON, G. R. ; HUTKINS, R. ; SANDERS, M.E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S. ; CANI, P. D. ; VERBEKE, K.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, p. 491–502, 2017.

GIBSON, G. R. et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science and Technology Bulletin*. **Functional Foods**, v. 7, p. 1-19, 2010.

GUARNER, F. Enteric flora in health and disease. **Digestion**, v.73, n.1, p.5-12, 2006.

GONZALES, E., MELLO, H.H.D.C., & CAFÉ, M.B. (2012). Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, 13, 48–53. https://www.proec.ufg.br/up/694/o/13_07.pdf

GUARNER, F. Enteric flora in health and disease. **Digestion**, v.73, n.1, p.5-12, 2006.

GUERRA, R. R. (2018). Morfofisiologia do sistema digestório de não ruminantes. In: Costa, F. G. P., & Silva, J. H. V. *Produção de não ruminantes*. (pp. 225-246). João Pessoa: Editora UFPB.

GUO, R.; HENRY, P. R.; HOLWERDA, R. A.; CAO, J.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 5, p.1132-1141, 2020.

HAFEZ, H.M. Doenças entéricas das aves com atenção especial ao clostridium perfringens. In: X Simpósio Brasil Sul de Avicultura e I Brasil Sul Poultry Fair, 2009, Chapecó. **Anais...**p. 32-44.

HAVENSTEIN, G.; FERKET, P.; QURESHI, M. 2003. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**. 82:1500-1508.

HERMANS, D.; PASMANS, F.; MESSENS, W.; MARTEL, A.; VAN IMMERSEEL, G.; HEYNDRICKX, M.; VANDEUN, K.; HAESEBROUCK, F. 2012. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. **Vector Borne Zoonotic Dis** (Larchmont, N.Y.) 12:89–98.

HORACIO, A.; ROSTAGNO, S.; GOMES, P. C. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. **Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa**, p. 488, 2017.

HORNINK, G.G., KAWAZOE, U. Coccidiose aviária: Um parasito de galinha doméstica, **Unifal-MG 1ª ed.** p-08, 2020.

HUANG, G.; ZHANG, S.; ZHOU, C.; TANG, X.; LI, C.; WANG, C.; et al. Influence of *Eimeria falciformis* Infection on Gut Microbiota and Metabolic Pathways in Mice. **Infection and Immunity**. 2018 Apr 23;86(5):e00073-18. doi: 10.1128/IAI.00073-18. PMID: 29440368; PMCID: PMC5913850.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. An update on alternativeto antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. 2004. **Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais**. In: MENDES, A. A.; NÄÄS, I. A.; MACARI, M.

JEURISSEN, S.H.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J.D., et al. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Current Issues Intestinal Microbiology**, Norfolk, v. 3, p.1–14, 2002.

JONES, F.T.; HAGLER, W.M. Observation on new and reused litter for growing broiler. **Poultry Science**, v.62, n.3, p.175-179, 1982.

JUN, C; FEI, L; XIUDONG, L; RIJUN, Z; Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* LFB112 isolated from Chinese herbs, a strain of a broad inhibitory spectrum against domestic animal pathogens, **Journal of Biotechnology**, Volume 175, 2014, Pages 63-64, ISSN 0168-1656, <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.01.013>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165614000157>)

KAHN, L. H. Antimicrobial resistance: a One Health perspective, **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Volume 111, Issue 6, June 2017, Pages 255–260, <https://doi.org/10.1093/trstmh/trx050>

KAWAZOE U. **Coccidiose In Doença das Aves**. Campinas, FACTA, 2000. p391-405

KENNEDY M. A brief history of disease, science and medicine: from the ice age to the genome project. **Califórnia: Asklepiad Press**; 2004.

KINUGASA, T.; SAKAGUCHI, T.; GU, X.; REINECKER, H. C. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators. **Gastroenterology**, v.118, n.6, p. 1001-1011. 2000

KIRCHHELLE, C. Pyrrhic progress antibiotics in Anglo-American food production (1935–2013). Newark: Rutgers University Press. Kirchhelle, C. Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). **Humanities & Social Sciences Communications**. ISSN (online): 2662-9992. 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41599-018-0152-2>. Acesso em: 01 ago. 2021.

KOGUT, M.H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal Feed Science and Technology**, 250:32–40, 2019.

LAN, Y.; VERSTEGEN, M.W.A.; TAMMINGA, S.; WILLIAMS, B.A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 61, n. 1, p. 95-104, 2005.

LARA, L. J. C. (2015). Reprodução nas aves: desafios do manejo e da nutrição. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** 39(1):85-90. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag85-90%20\(RB548\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag85-90%20(RB548).pdf). Acesso em: 13/11/2021.

LEE, B.; MOON, K. M.; KIM, C. Y. (2018). Tight Junction in the Intestinal Epithelium: Its Association with Diseases and Regulation by Phytochemicals. **Journal of immunology research**, 2018, 2645465. <https://doi.org/10.1155/2018/2645465>

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. A.; COX, M. M. **Principles of Biochemistry**. Worth Publishers, INC. New York. United States. 1993.

LIU, S. B.; LI, S. F.; LU, L. XIE, J. J.; ZHANG, L. Y.; WANG, R. L.; LUO, X. G. The effectiveness of zinc proteinate for chicks fed a conventional corn-soybean meal diet, **Journal of Applied Poultry Research**, Volume 22, Issue 3, 2013, Pages 396-403, ISSN 1056-6171, <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00564>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056617119304945>)

LOURENÇO, M.C; KURITZA, L.N; WESTPHAL, P.; MIGLINO, L.B.; PICKLER, L.; KRAIESKI, A.L.; SANTIN, E. Uso de probiótico sobre a ativação de células T e controle de *Salmonella Minnesota* em frangos de corte. **Pesq. Vet. Bras.** 33(1):11-14, 2013.

MAIORKA, A.; SILVA, A. V. F.; SANTIN, E. 2000. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arq Bras Med Vet Zootec.** 52(5):487-490.

MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A., et al. Emprego de uma mistura de ácido fumárico, láctico, cítrico e ascóbio em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. 2008. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. Pág. 113-120. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. **2ª ed. Jaboticabal**: FUNEP/UNESP.

MANANGI, M. K.; VAZQUEZ-AÑÓN, M.; RICHARDS, J. D.; CARTER, S.; BURESH, R. E.; CHRISTENSEN, K. D. Impact of feeding lower levels of chelated trace minerals versus industry levels of inorganic trace minerals on broiler performance, yield, footpad health, and litter mineral concentration, **Journal of Applied Poultry Research**, Volume 21, Issue 4, 2012, Pages 881-890, ISSN 1056-6171, <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00531>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056617119306853>)

Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, Brasil. **Instrução normativa nº 44**, de 15 de dezembro de 2015. [acesso em 9 de mar. de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumospecuarios/produtos-veterinarios/legislacao1/instrucoes-normativas/instrucao-normativasdam-apandeg-44-de-15-12-2015.pdf/view>.

MARQUES, R. S. et al. Effects of organic or inorganic cobalt, copper, manganese, and zinc supplementation to late-gestating beef cows on productive and physiological responses of the offspring. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 3, p. 1215–1226, 2016.

MARSHMAN, E.; BOOTH, C.; POTTEN, C.S. The intestinal epithelial stem cell. **Bioessays**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 91–98, 2002.

McBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: A review. **J. Anim. Sci.** 68:2997–3010.

McCARTNEY, E. O Banimento de Antibióticos Promotores de Crescimento na UE – Implicações Globais para a Nutrição Animal. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2008, Chapecó – SC. **Anais**. Chapecó: [s.n.], 2008. p.13-33

McDOUGALD, L.R.; REID, W.M. Coccidiosis. In: Calnek, B.W.; Barnes, H.J., Beard, C.W.; McDougald, L.R.; Saif, Y.M. **Diseases of Poultry**. 10th ed. Ames: Iowa State University Press; 1997. p. 865-883.

McMULLIN, P. Produção avícola sem antibióticos: riscos potenciais de contaminação cruzada e detecção de resíduos. In: **Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Santos. Anais...Santos: Facta, 2004. v. 2, p. 219-226

MEJÍA, D. B.; PEÑUELA, L. M.; SANMIGUEL, R. A. El gran impacto de Clostridium perfringens en aves de corral. **PUBVET** v.12, n.9, a180, p.1-9, setembro, 2018.

MESA, D.; LOURENÇO, M.; WESTPHAL, P.; KRAIESKI, A.; SANTIN, E. 2014. Modelo de protocolo experimental para induzir, classificar e avaliar as enterites inespecíficas em frangos de corte. **Pesq. Vet. Bras.** 34(10):929-936, outubro 2014.

MILES, R. D.; HENRY, P. R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 73–92, 2000.

MOOG, F. 1981. "The lining of the small intestine." **Sci Am** 245(5): 154-158, 160, 162.

MROZ, Z; PARTENEN, K.H.; Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v.12, n.1, p.117-145, 2002.

MURAROLLI, V.D.A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em nutrição e produção animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 101 p.2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, D.C.: **National Academy Press**, 2011.

NAZ, S. et al. The activity and use of zinc in poultry diets. **World's Poult. Sci.**, 72, 159-167, 2016. DOI. 10.1017/S0043933915002755. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/activity-and-use-of-zinc-in-poultry-diets/BCEC224438E5B666E0993C0D729D44AA> . Acesso em: 01 ago. 2021.

NETEA, M. G.; QUINTIN, J.; & VAN DER MEER, J. W. (2011). Trained immunity: a memory for innate host defense. **Cell host & microbe**, 9(5), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.04.006>

NYS, Y. et al. Adapting trace mineral nutrition of birds for optimising the environment and poultry product quality. **World's Poult. Sci.**, 74, 1-14, 2018. DOI. doi.org/10.1017/S0043933918000016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/adapting-trace-mineral-nutrition-of-birds-for-optimising-the-environment-and-poultry-product-quality/546089D4F3AD535DDA79F6A633659EBB>. Acesso em: 29 jul. 2021.

OECD/FAO (2017), **OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026**, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en.

OECD/FAO (2021), **OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030**, OECD Publishing, Paris. http://oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2021-2030_19428846-en.

OLIVEIRA, D.R.M.S. & NÄÄS, I.A. Issues of sustainability on the Brazilian broiler meat production chain. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ADVANCES IN PRODUCTION MANAGEMENT SYSTEMS, 2012, Rhodes. **Anais**. Competitive Manufacturing for Innovative Products and Services: proceedings, Greece: International Federation for Information Processing, 2012.

PATRICIO, I.; MENDES, A.; RAMOS, A.; PEREIRA, D. 2012. Overview on the performance of Brazilian broilers (1990 to 2009). **Revista Brasileira de Ciências Avícolas** 14:233-238.

PESSÔA, G.B.S.; TAVERNARI, F.C.; VIEIRA R.A.; ALBINO, L.F.T. Novos conceitos em nutrição de aves. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.13, n.3, p.755-774 jul./set., 2012 <http://www.rbspa.ufba.br> ISSN 1519 9940

PINHEIRO, A.C.; MATOS, S. Piora da pandemia e seus impactos na economia. **Boletim Macro – FGV IBRE**, Março, 2021, nº 117 <https://portalibre.fgv.br/sites/default/files/2021-03/2021-03-boletim-macro.pdf>

PIVA, A.; GRILL, E.; FABBRI, L.; PIZZAMIGLIO, V.; CAMPANI, I. Free versus microencapsulated organic acids in medicated or not medicated diet for piglets. **Livestock Science**, v. 108, p. 214-217, 2007.

PORTERJÚNIOR, R.R.E. Bacterial Enteritides of Poultry. **Poultry Science**, Champaign, v.77, n. 8, p. 1159–1165, 1998.

PRESCOTT, J.F.; PARREIRA, V.R.; GOHARI, I.M.; LEEP, D.; GONG, J. 2016. The pathogenesis of necrotic enteritis in chickens: what we know and what we need to know: a review. **Avian Pathol.** 45:288–294.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

ROSEN, G.D. Holo-analysis of the efficacy of Bio-Mos® in broiler nutrition. **British Poultry Science.** 48: 24-26. 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; HANNAS, M.I. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4.ed. **Viçosa**: UFV, 2017. 488p.

RUTZ, F.; ROLL, V. F. B.; XAVIER, E. G.; ANCIUTTI, M. A.; LOPES, D. C. N. Fisiologia da digestão e da absorção em aves. In: **Anais. XVI Simpósio Brasil Sul de Avicultura e VII Brasil Sul Poultry Fair**, v. 1, p. 58-71, 2015.

SALIM, H.M., HUQUE, K.S., KAMARUDDIN, K.M., & HAQUE BEG, A. (2018). Global Restriction of Using Antibiotic Growth Promoters and Alternative Strategies in Poultry Production. **Science Progress**, 52–75. <https://doi.org/10.3184/003685018X15173975498947>

SANSONETTI, P.J. 2006. The innate signaling of dangers and the dangers of innate signaling. **Nature Immunology**, v.7, p.1237-1242, 2006.

SANTOS, A.V. Aditivos antibióticos, Probióticos e prebióticos em rações para leitões desmamados precocemente. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.17, n.1, p.1-10, 2016.

SANTOS, J.R.G.; CONCEIÇÃO, F.R.; GIL-TURNES, C. Enterite necrótica aviária: Revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.2076-2082, 2008.

SCHEUERMANN, G.N.; THEREZA, N.A.; OLIVEIRA, C.R.A.; COELHO, H.D.S.; BOAS, M.B.V.; COUTINHO, R.M.C.; GUERREIRO, J.R. Utilização de hormônios na

produção de frangos: mito ou realidade?. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 33, n. 1, p. 94-99, 2015.

SENGUPTA, S.; MUIR, J.G.; GIBSON, P.R. Does butyrate protect from colorectal cancer? **Journal Gastroenterology Hepatology**, 21:209-18. 2006.

SERRANO, P. S. Prebióticos en la mejora de la función gastrointestinal. 2017, 24 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia). **Universidade Complutense**, 2017.

SHANG, Y.; KUMAR, S.; OAKLEY, B.; KIM, W. K. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. **Frontiers in Veterinary Science**, 5: 254, 2018.

SHASHIDHARA, R.G.; DEVEGOWDA, G. Effect os dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. **Poultry Science.**, 82: 1319-1325 DOI. 10.1017/S0043933917000757

SHAWKAT, A. M.; SHU-BIAO, W.; MINGAN, C.; REBECCA, F.; ROBERT, A.S. Use of yeast cell wall extract as a tool to reduce the impact of necrotic enteritis in broilers, **Poultry Science**, Volume 94, Issue 5, 2015, Pages 898-905, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pev035>.(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119324800>)

SIKANDAR, A.; ZANEB, H.; YOUNUS, M.; MASOOD, S.; ASLAM, A.; KHATTAK, F.; REHMAN, H. Effect of sodium butyrate on performance, immune status, microarchitecture of small intestinal mucosa and lymphoid organs in broiler chickens. **Asian- Australasian Journal of Animal Sciences**, 30, 690–698, 2017.

SILVA, C.R. Uso de probióticos em rações de frangos de corte: desempenho, digestibilidade e energia metabolizável. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa MG, p.64, 2008.

SIMITZIS, P.E.; KALOGERAKI, E.; GOLIOMYTIS, M.; CHARISMIADOU, M.A.; TRIANTAPHYLLOPOULOS, K.; AYOUTANTI, A.; NIFOROU, K.; HAGER-THEODORIDES, A.L.; DELIGEORGIS, S.G. 2012. Impact of stocking density on broiler growth performance, meat characteristics, behavioural components and indicators of physiological and oxidative stress. **Brit. Poult. Sci.** 53:721-730.

SKINNER, J.T.; BAUER, S.; YOUNG, V.; PAULING, G.; WILSON, J. An Economic Analysis of the Impact of Subclinical (Mild) Necrotic Enteritis in Broiler Chickens. **Avian Dis.** 2010; 54 (4): 1237–1240. doi: <https://doi.org/10.1637/9399-052110-Reg.1>

SMITH, M. W.; MITCHELL, M.; PEACOCK, M. A. 1990. Effects of genetic selection on growth rate and intestinal structure in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). **Comp. Biochem. Physiol.**, 97:57-63.

SMITH, M.O. Parts yield of broilers reared under cycling high temperatures. **Poultry Science**, v.72, p.1146-1150, 1993.

SOUZA, G. F.; ROCHA, S.L.S.; FURIAN, T.Q.; BORGES, K. A.; SALLE, F. O.; MORAES, L. B.; MORAES, H. L. S.; SALLE, C. T. P. Classification of Avian Pathogenic Escherichia coli by a Novel Pathogenicity Index Based on an Animal Model. **Acta Scientiae Veterinariae**. 44: 1347. 2016.

SPEARS, J. W. 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. **Anim. Feed Sci. Technol.** 58:151–163.

STAR, L. et al. Bioavailability of organic and inorganic zinc sources in male broilers. **Poultry Science**., 91, 3115-3120, 2012. DOI. 10.3382/ps.2012-02314 Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233424092_Bioavailability_of_organic_and_inorganic_zinc_sources_in_male_broilers>. Acesso em: 01 ago. 2021.

SVANES, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K., et al. 1982. Restitution of the surface epithelium of the in vitro frog gastric mucosa after damage with hyperosmolar sodium chloride. **Gastroenterology**. 82:1409-1426

SWAGGERTY, C.L.; McREYNOLDS, J.L.; BYRD, J.A.; PEVZNER, I.Y.; DUKE, S.E.; GENOVESE, K.J.; HE, H.; KOGUT, M.H. Selection for pro-inflammatory mediators produces chickens more resistant to Clostridium perfringens-induced necrotic enteritis. **Poultry Science**. 2016 Feb;95(2):370-4. doi: 10.3382/ps/pev348. Epub 2015 Dec 25. PMID: 26706357.

TAMMA, P.D., et al., Association of Adverse Events With Antibiotic Use in Hospitalized Patients. **JAMA Internal Medicine**, 177(9): p. 1308-1315, 2017.

TAN, J.; APPELATE, T.J.; LIU, S. et al. Supplemental dietary L-arginine attenuates intestinal mucosal disruption during a coccidial vaccine challenge in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 7, p. 1098-1109, 2014.

TAPIERO, H.; TEW, K.D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, n. 9, p. 399-411, nov. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0753-3322\(03\)00081-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0753-3322(03)00081-7).

TEIRLYNCK, E.; GUSSEM, M.D.E.; DEWULF, J.; HAESBROUCK; F.; DUCATELLE; R.; Van IMMERSEEL, F. 2011. Morphometric evaluation of “dysbacteriosis” in broilers. **Avian Pathol**. 40:139-144.

TEIXEIRA, A.S. **Alimentos e alimentação dos animais**. 4. ed. Lavras:UFLA/FAEPE, 1997. 402 p.

THOMPSON, J.L., HINTON, M., 1997. Antibacterial activity of formic acid and propionic acid in the diet of hens on salmonellas in the crop. **Journal British Poultry Science**, v. 38, n. 1, p. 59-65, 1997.

TIMBERMONT L.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. **Avian Pathology**, v.40, p.341-347, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.590967>.]

UNI, Z. 2000. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens in small intestine. **Br Poult Sci. London**, 41(2):410-415.

UNI Z. 2006. Early development of small intestinal function. In: Poultry Science Symposium Series. **Avian Gut Function in Health and Disease**. Washington DC, USA. 28:29-4

VAN IMMERSEEL, F.; DE BUCK, J.; PASMANS, F.; HUYGHEBAERT, G.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat for animal and public health. **Avian Pathology**, v.33, p.537-549, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450400013162>.

VAN IMMERSEEL, F.; RUSSEL, J.B.; FLYTHE, M.D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. The use of organic acids to combat Salmonella in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**. 2006; 35(3):182-188.

VILAS BOAS, A.D.C. 2014. Suplementação de ácidos orgânicos em dietas para leitões na fase de creche. Produção Animal Sustentável. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto de Zootecnia. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Nova Odessa. 70 pp.

VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4 (supl.), p. 1097-1104, 2007

WADE, B.; KEYBURN, A. L. 2015. The true cost of necrotic enteritis. **World Poult**. 31:16–17.

WALSH, C.; *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*, ASM Press: Washington, 2003.

WARRANT, J. Healthy Polysaccharides The Next Chapter in Food Products. **Food Technology. Biotechnol**, v. 44, n. 3, p. 355–370, 2006.

WILSON, K. M.; CHASSER, K.M.; DUFF, A.F.; BRIGGS, W.N.; LATORRE, J.D.; BARTA, J.R.; BIELKE, L.R. 2018. Comparison of multiple methods for inductions of necrotic enteritis in broilers. I. J. Appl. **Poult. Res**. 0:1–13

WITTIG, B.M.; ZEITZ, M. The gut as an organ of immunology. **Int J Colorectal Dis**, v.18, n.3, p.181-187, 2003.

WU, Q.J.; LIU, N.; WU, X.H.; WANG, G.Y.; LIN, L. Glutamine alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, intestinal inflammatory response, and barrier integrity in broilers. **Poultry Science**, 97:2675–2683, 2018

YITBAREK, A.; ASTILL, J.; HODGINS, D.C.; PARKINSON, J.; NAGY, E.; SHARIF, S. Commensal gut microbiota can modulate adaptive immune responses in chickens vaccinated with whole inactivated avian influenza virus subtype H9N2. **Vaccine**. 37: 6640–6647, 2019.

YANG, X.; YIN, F.; YANG, Y.; LEPP, D.; YU, H.; RUAN, Z.; YANG, C.; YIN, Y.; HOU, Y.; LEESON, S. et al. Dietary butyrate glycerides modulate intestinal microbiota composition and serum metabolites in broilers. **Scientific Reports**, 8(1):1–12, 2018.

3. DESEMPENHO E RENDIMENTO DE CARÇA DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM UM *BLEND* DE ADITIVOS ALIMENTARES E SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESAFIO ENTÉRICO

RESUMO. O objetivo deste estudo foi avaliar o uso de um *blend* de aditivos alimentares sobre o desempenho e o rendimento de carcaça de frangos de corte submetidos a uma proposta de desafio entérico associado ou não ao uso de antibiótico melhorador de desempenho. Foram utilizados 3.936 frangos de corte machos (Ross AP95[®]) com 01 dia de idade, distribuídos em esquema fatorial 6x2 com 12 tratamentos e 8 repetições de 41 aves por box. Os tratamentos experimentais foram: 1) Controle negativo (CN) sem AMD; 2) Controle positivo (CP) com AMD; 3) CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração; 4) CN + 0,5kg, 5) CN + 1,0kg e 6) CN + 1,5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração Vs desafiados ou não. Aos 14 dias de idade, as aves dos grupos desafiados receberam inoculação no ingluvío de vacina para coccidiose contendo 20 vezes a dose recomendada pelo fabricante. Dois dias após (16^o dia), também as aves dos grupos desafiados receberam um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC[®] 8739TM) com uma concentração calculada de 10⁹ UFC/ave aplicado diretamente no ingluvío. A avaliação do peso médio, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar foi realizada semanalmente. O escore de empenamento foi determinado aos 28, 35 e 42 dias de idade. Para cálculo do rendimento carcaça, cortes e deposição de gordura abdominal, aos 42 dias, foram abatidas 5 aves/tratamento. Os resultados obtidos no experimento foram tabulados e analisados, utilizando-se análise de variância (ANOVA), do procedimento General Linear Model (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, versão 9.4). Quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05). Os resultados deste estudo mostram que o modelo de desafio entérico proposto, independentemente do tipo de dieta (basal ou suplementada com AMD/*Blend* de aditivos), foi capaz de induzir quadro de doença entérica. Aves desafiadas apresentaram pior (p<0,05) desempenho produtivo. O grupo de aves não desafiado apresentou maior (p<0,05) peso absoluto de carcaça, peito, asas e dorso independentemente da dieta. Aves dos tratamentos CP, CP + 1,0kg do *blend* de aditivos e CN + 1,5kg do *blend* de aditivos apresentaram menor

($p < 0,05$) deposição de gordura abdominal. A conversão alimentar foi melhor ($p < 0,05$) para aves que receberam 1,5kg do *Blend* de aditivos alimentares suplementado à dieta. O modelo experimental proposto neste estudo foi capaz de induzir quadro de doença entérica. O uso do aditivo alimentar avaliado neste estudo mostrou resultados similares ou até mesmo superiores quando comparados aos demais grupos que receberam AMD indicando que o produto pode substituir o antibiótico sem causar prejuízos à saúde e à produção animal.

Palavras-chave: Empenamento, enterite, frangos de corte, protocolo experimental, saúde intestinal.

3. PERFORMANCE AND CARCASS YIELD OF BROILERS SUPPLEMENTED WITH A BLEND OF FEED ADDITIVES AND SUBMITTED TO AN ENTERIC CHALLENGE MODEL

ABSTRACT. The objective of this study was to evaluate the use of a blend of food additives on the performance and carcass yield of broilers submitted to an enteric challenge proposal associated or not with the use of antibiotic growth promoter. A total of 3,936 male broilers (Ross AP95®) with 01 day of age were used, distributed in a 6x2 factorial scheme with 12 treatments and 8 replications of 41 birds per box. The experimental treatments were: 1) Negative control (NC) without AGP; 2) Positive control (PC) with AGP; 3) PC + 1.0kg of Blend of additives/ton of feed; 4) NC + 0.5kg, 5) NC + 1.0kg and 6) NC + 1.5kg Additive Blend/ton of feed Vs challenged or not. At 14 days of age, birds in the challenged groups were inoculated into the coccidiosis vaccine pool containing 20 times the dose recommended by the manufacturer. Two days later (16th day), the birds of the challenged groups also received an inoculum containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) with a calculated concentration of 10⁹ CFU/bird applied directly to the flock. The evaluation of average weight, feed consumption, weight gain and feed conversion rate was performed weekly. The feathering score was determined at 28, 35 and 42 days of age. To calculate the carcass yield, cuts and deposition of abdominal fat, at 42 days, 5 birds/treatment were slaughtered. The results obtained in the experiment were tabulated and analyzed using analysis of variance (ANOVA) using the General Lineal Model (GLM) procedure, with the aid of the statistical program SAS (Statistical Analysis System, version 9.4). When significant, treatment means were compared using the Tukey test ($p < 0.05$). The results of this study show that the proposed enteric challenge model, regardless of the type of diet (basal or supplemented with AGP/Blend of additives), was able to induce enteric disease. Challenged birds showed worse ($p < 0.05$) productive performance. The non-challenged group of birds presented higher ($p < 0.05$) absolute weight of carcass, breast, wings and back, regardless of diet. Poultry from treatments PC, PC + 1.0kg of the additive blend and NC + 1.5kg of the additive blend showed lower ($p < 0.05$) abdominal fat deposition. Feed conversion rate was better ($p < 0.05$) for birds that received 1.5kg of the Blend of feed additives supplemented to the diet. The experimental model proposed in this study was able to induce enteric disease. The use of the food additive evaluated in this study showed similar or even superior results when compared to the other groups that received AGP, indicating that the product can replace the antibiotic without causing harm to health and animal production.

Keywords: Broilers, enteritis, experimental protocol, feathering, intestinal health.

3.1. INTRODUÇÃO

A demanda global por alimentos, dentre eles as carnes, tem crescido anualmente. Especificamente sobre o consumo de carne de frangos se estima crescimento do consumo na ordem 17,8% até 2030 (OCDE/FAO, 2021).

Os mercados consumidores buscam fornecedores que possam atender os volumes necessários, mas que ofereçam além de quantidade, produtos com qualidade certificada e que proporcionem segurança alimentar. A exemplo disso, no que diz respeito a segurança alimentar, desde 2006, diversos países baniram o uso de antibióticos melhoradores de desempenho preocupados com a saúde pública que é um assunto cada vez mais recorrente (WEGENER, 2012; M'Sadeq *et al.*, 2015; Lekshmi *et al.*, 2017; MORE, 2020). No Brasil, país líder de exportação avícola, órgãos federais e empresas vêm se adaptando às novas demandas do mercado através de legislações e Instruções Normativas publicadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento no intuito de promover restrições ao uso destas substâncias (MAPA - Instrução Normativa nº 45, 2016 e a Instrução Normativa nº 01, 2020).

Este é um cenário desafiador: há aumento da demanda de carne de frangos permitindo ainda o uso de poucas moléculas de AMD, mas com crescentes restrições ao uso destes aditivos não nutricionais (AMD) e/ou produtos químicos fazendo com que haja necessidades de adaptação ou, até mesmo, alteração no modelo de criação dos plantéis avícolas (Nazeer *et al.*, 2021). Assim, as agroindústrias necessitam encontrar diferentes meios de criação que proporcionem segurança e melhoria na condição de saúde intestinal das aves minimizando perdas zootécnicas e/ou financeiras.

A respeito da saúde intestinal das aves, o controle de enterites tem especial importância. Comumente quadros de enterite em lotes de frangos de corte são ocasionados por protozoários do gênero *Eimeria* (Coccidiose aviária) que, ao se replicarem em diferentes porções do trato gastrointestinal, invadem e rompem células desestabilizando a homeostasia intestinal. A ocorrência de lesões nas estruturas intestinais e quebra de equilíbrio da microbiota comprometem a digestão dos alimentos e a absorção dos nutrientes (VERMEULEN *et al.*, 2001). Esta enfermidade entérica pode ser agravada em razão de

fatores como, por exemplo, a colibacilose aviária causada por cepas patogênicas da bactéria *Escherichia coli* (APEC).

Cepas APEC podem ocasionar infecções de forma direta ou indiretamente se valendo de quadro entérico primário (MELLATA *et al.*, 2003; NOLAN *et al.*, 2020) agravando o panorama clínico dos animais acometidos. Muitas vezes essa infecção mista, causada por diferentes agentes (enterite inespecífica), torna o diagnóstico inconclusivo dificultando as tomadas de decisão e retardando a solução do problema em questão (MESA *et al.*, 2014) ocasionando significativas perdas produtivas.

O desenvolvimento de estratégias que possibilitem a continuidade da produção eficiente é essencial. A alimentação das aves deve ser adequada constantemente com o objetivo de buscar o melhor desempenho animal associado a melhor capacidade imunogênica. O uso de alguns aditivos alimentares não antibióticos como ácidos orgânicos (PICKLER *et al.*, 2012), prebióticos (KEERGIN *et al.*, 2017) minerais orgânicos (SALIM *et al.*, 2008) entre outros, que têm demonstrado propriedades bacteriostáticas e capacidade de regeneração da integridade intestinal (CALIK & ERGÜN, 2015), se torna primordial para o setor produtivo.

Nesse sentido, a aplicação de protocolos de estudo capazes de afetar a saúde intestinal das aves reproduzindo quadros de desafio entérico que possibilitem a avaliação dos efeitos do uso de aditivos alimentares é de grande relevância para que os profissionais possam melhor compreender as variáveis envolvidas, as respostas das aves frente ao uso de novos aditivos bem como entender os desdobramentos gerados pela infecção e a interação que se desenvolve entre o indivíduo, o agente causador e as novas tecnologias em estudo.

Além disso, o uso de um *blend* de aditivos alimentares formulado de modo equilibrado e que permita o efeito sinérgico dos aditivos associado ou não ao AMD pode vir a auxiliar na busca por melhores resultados zootécnicos e econômicos na criação industrial dos animais de produção. Soma-se a esses fatores o efeito positivo que tem o uso de um *blend* de aditivos no sistema de produção de rações otimizando o tempo de serviço dos profissionais da fábrica de ração bem como agrega maior segurança ao processo fabril ao reduzir a quantidade de produtos a serem dosados pelos colaboradores.

Nos últimos anos, em função da restrição ao uso de grande parte das moléculas de antibióticos melhoradores de desempenho nas dietas de animais de produção, diversos estudos têm avaliado aditivos alimentares sob distintos modelos de desafios entéricos. Em razão da importância deste tema, o objetivo deste estudo foi propor uma metodologia segura de aplicação de desafio entérico experimental e avaliar os efeitos do uso de um *Blend* de

aditivos alimentares sobre o desempenho produtivo e o rendimento de carcaça de frangos de corte com ou sem AMD nas dietas fornecidas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. Todos os procedimentos com uso de animais foram atendidos sendo este trabalho submetido à avaliação e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR - Setor Palotina (Protocolo 18/2020).

Foram utilizados 3.936 frangos de corte machos da linhagem Ross AP95[®] com 01 dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casual, em esquema fatorial 6 x 2 totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 41 aves por box.

Os tratamentos experimentais consistiram em 1) controle negativo (CN) sem antibiótico melhorador de desempenho; 2) controle positivo (CP) com antibiótico melhorador de desempenho (bacitracina de zinco); 3) CP + 1.0kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração; 4) CN + 0,5kg; 5) CN + 1,0kg e 6) CN + 1,5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração *Vs* com ou sem desafio entérico. O *blend* de aditivos utilizado foi o produto comercial Viligen[™] (Alltech[®]) composto por butirato de sódio encapsulado (BSE), levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja seguindo as recomendações nutricionais das agroindústrias locais para as idades de 1 a 21 dias (inicial), de 22 a 35 dias (crescimento) e de 36 a 42 (abate) (Tabela 1). Água e alimento foram fornecidos *ad libitum* durante todo o período experimental. As aves foram alojadas em cama de maravalha reutilizada e recoberta com cama nova e a temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico das aves considerando cada fase de criação. O manejo de criação e o programa de estímulo luminoso foram seguidos de acordo com recomendações contidas no manual de criação de frangos de corte da linhagem Ross AP95[®]. O programa vacinal foi realizado no incubatório (vacinas de Marek, Gumboro e Bronquite).

Aos 14 dias de idade, os grupos de aves desafiadas receberam aplicação da vacina comercial Bio-Coccivet R[®] para coccidiose com as espécies *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*. Previamente à aplicação foi realizada a esporulação dos oocistos pela injeção de O₂ diretamente em tubos Falcon com a vacina, os quais foram rapidamente lacrados e mantidos em estufa incubadora de demanda bioquímica de oxigênio

(BOD) a 28°C durante 48 horas. A vacina foi inoculada diretamente no inglúvio de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina (± 80.000 oocistos esporulados). Dois dias após, um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10^9 UFC/ave foi preparado e fornecido diretamente no inglúvio de cada ave dos grupos desafiados.

TABELA 1 - Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de 01 a 42 dias de idade.

Ingredientes	Dietas		
	Inicial (1 a 21 dias)	Crescimento (22 a 35 dias)	Abate (36 a 42 dias)
Milho	577,09	596,07	699,27
Farelo de Soja 46%	376,09	357,70	259,66
Óleo de Soja Degomado	8,08	19,06	16,16
Fosfato bicálcico	10,61	7,13	3,69
Calcário calcítico	11,28	8,70	8,14
Sal comum (NaCl)	5,06	4,81	4,55
Lisina sulfato	3,22	0,54	2,83
DL-Metionina 99%	3,21	2,02	1,99
L-Treonina 98%	0,48	.	0,15
Colina 60%	0,87	0,36	0,15
Premix Mín. ¹	1,00	0,90	0,80
Premix Vit. ²	1,30	1,00	0,70
Inerte ³	1,50	1,50	1,50
Allzyme SSF E+C ⁴	0,20	0,20	0,20
Níveis Nutricionais			
Energia Met., Kcal/Kg	3.050	3.150	3.250
Proteína Bruta %	23,00	22,00	18,50
Sódio %	0,22	0,21	0,20
Cálcio %	0,97	0,76	0,64
Ca/Pd %	1,94	1,90	2,00
Cloro %	0,36	0,34	0,33
Fósforo Disponível %	0,50	0,40	0,32
Lisina Dig. Aves %	1,30	1,12	1,01
Met.+Cist Dig.Aves %	0,96	0,83	0,75
Treonina. Dig.Aves %	0,84	0,77	0,66
Triptofano Dig.Aves %	0,26	0,25	0,20
Leucina Dig Aves %	1,70	1,70	1,70
Isoleucina Dig. Aves %	0,82	0,82	0,82
Valina Dig. Aves %	0,98	0,95	0,79
Arginina Dig.Aves %	1,47	1,41	1,14

^{1, 2} Premix vitamínico e mineral: Vitamina A (KUI/kg 6.000,000); Vitamina D3(KUI/kg 1.750,000); Vitamina E (mg/kg 15.000,000) Vitamina K3 (mg/kg 1.500,000); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 1.500,000); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 4.000,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 2.500,000); Vitamina B12 –

Cianocobalamina (mcg/kg 10.000,000); Niacina (mg/kg 20.000,000); Acido Pantotênico (mg/kg 9.000,000); Ácido Fólico (mg/kg 1.250,000); Biotina (mcg/kg 120.000,000); Manganês orgânico (50-I/45-C1/40-A mg/kg); Zinco orgânico (40-I/36C1/32-A mg/kg); Ferro orgânico (30-I/27-C1/24-A mg/kg); Cobre orgânico (6-I/5,4-C1/4,8-A mg/kg); Iodo (2,0-I/1,8-C1/1,6-A mg/kg); selênio orgânico (18-I/16-C1/14-A mg/kg); BHT (mg/kg 75,000);

³ Inerte: substituído pelo *Blend* de aditivos ou pela Bacitracina de zinco 15% (55 ppm de princípio ativo)

⁴ Allzyme SSF E+C (Complexo enzimático): Protease (mín.) 700u/g; Fitase (mín.) 300u/g (SPU); Celulase (mín.) 40 u/g.

3.2.1 Avaliação do desempenho das aves

Para a avaliação do desempenho produtivo (peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), as aves foram pesadas semanalmente, assim como a sobra de ração fornecida. A conversão alimentar foi corrigida pela mortalidade semanal das aves conforme metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2016).

3.2.2 Escores de empenamento

A avaliação do empenamento por escore foi feita utilizando o modelo proposto por Edens (1996). Foram avaliadas visualmente 03 aves/repetição aos 28, 35 e 42 dias de idade considerando o empenamento do dorso e da coxa. Os escores variaram de 0 a 5 de acordo com o grau de empenamento apresentado pela ave nas duas regiões do corpo. A avaliação foi feita pelos mesmos avaliadores nas três idades.

Aos 42 dias de idade foi feita avaliação do empenamento pela porcentagem das penas. Essa avaliação foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cooper et al. (1997) e Lowe et al. (1985). Para isso, as aves destinadas à avaliação do empenamento foram sacrificadas através de embolia, de modo a não perder sangue no momento da depenagem. Antes da depenagem, as aves foram pesadas, obtendo-se assim o peso da carcaça com penas. As aves foram escaldadas com água a 50°C, tomando-se o cuidado de não escaldar os pés para que a cutícula não fosse retirada no momento da depenagem. Posteriormente as carcaças foram repassadas manualmente a fim de eliminar todo resíduo de penas, penduradas em ganchos próprios e enxugadas com papel absorvente. A carcaça foi novamente pesada, obtendo-se o peso da carcaça sem penas. Por diferença foi obtido o peso das penas (absoluto) que foi utilizado na equação que determina a porcentagem das penas (peso relativo) em relação ao peso da carcaça.

3.2.3 Uniformidade das aves

Aos 42 dias de idade foi realizada a pesagem individual de 5 aves por repetição para posterior obtenção da uniformidade das aves em cada tratamento.

3.2.4 Rendimento da carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal

O rendimento de carcaça e a composição centesimal de peito, pernas, asas e de gordura abdominal foram determinados aos 42 dias de idade em 5 aves/repetição (45 aves por tratamento). Previamente, as aves foram identificadas e submetidas ao jejum alimentar por seis horas. Em seguida, as aves foram abatidas por atordoamento por eletro narcose e posterior sangria, sendo na sequência submetidas à escaldagem, depenagem e evisceração de acordo com Instrução Normativa nº 3 de janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2000).

Para o cálculo do rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele) e asas com pele que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal presente ao redor da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por Smith (1993). Em seguida, foi pesada e calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

3.2.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos no experimento foram tabulados e analisados, utilizando-se análise de variância (ANOVA), do procedimento General Lineal Model (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS (Statistica Analysis System, versão 9.4). Quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 RESULTADOS

Previamente ao desafio entérico, de 1 a 14 dias de idade, não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) nos parâmetros de desempenho (Tabela 2).

Tabela 02 – Peso corporal (PC), ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 1 a 14 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos de corte.

Dieta	PC (g)	GP (g)	CMR (g)	CA (g:g)
Controle Negativo (CN)	369,97	324,51	444,47	1,401
Controle Positivo (CP)	368,04	321,38	440,24	1,370
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	364,63	318,95	442,02	1,387
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	373,36	327,82	441,83	1,362
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	372,07	327,32	451,11	1,387
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	366,79	321,78	444,75	1,383
CV%	3,00	3,63	3,69	4,89
Valor de P	0,230	0,220	0,563	0,655

Fonte: O autor (2021)

A performance das aves aos 28, 35 e 42 dias de idade foi afetada ($p < 0,05$) pelo desafio entérico (Tabelas 3, 4 e 5), exceto o ganho de peso e conversão alimentar aos 42 dias de idade que não apresentaram diferença ($p > 0,05$). Todas as variáveis analisadas nestes períodos (peso corporal, ganho de peso, consumo médio de ração e conversão alimentar) apresentaram melhores ($p < 0,05$) resultados para as aves do grupo que não foi submetido ao desafio. Houve efeito das dietas para ganho de peso aos 35 dias em que as aves dos tratamentos CP e CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton apresentaram maior ($p < 0,05$) GP em relação as aves que receberam a dieta CN + 1,0kg de *Blend* de aditivo/ton. Aos 42 dias de idade, observou-se diferença ($p < 0,05$) para peso corporal tendo sido estatisticamente superior o peso corporal das aves que receberam a dieta CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton em comparação com as aves que receberam a dieta CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos.

Tabela 03 – Peso corporal (PC), ganho de Peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 22 a 28 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio entérico.

	PC (g)	GP (g)	CMR (g)	CA(g:g)
Dietas				
Controle Negativo (CN)	1479,55	641,90	929,29	1,449
Controle Positivo (CP)	1436,00	623,72	907,32	1,464
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	1457,36	629,99	908,26	1,452
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	1467,99	639,94	919,42	1,451
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	1465,38	636,08	916,59	1,442
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	1465,37	639,97	911,99	1,435
Desafio experimental				
Sem	1507,84 ^a	648,07 ^a	931,63 ^a	1,438 ^b
Com	1414,69 ^b	621,56 ^b	899,81 ^b	1,460 ^a
CV%	2,71	3,97	2,87	2,80
Dieta	0,087	0,317	0,200	0,492
Desafio	<,0001	<,0001	<,0001	0,011
Dieta x Desafio	0,325	0,777	0,896	0,429

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: O autor (2021)

Tabela 04 – Peso corporal (PC), ganho de Peso (GP), consumo médio de ração (CRM) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 29 a 35 dias de idade suplementados com *blend* de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio entérico.

	PC (g)	GP (g)	CMR (g)	CA(g:g)
Dietas				
Controle Negativo (CN)	2262,07	787,55 ^{ab}	1258,10	1,607
Controle Positivo (CP)	2253,45	810,85 ^a	1256,29	1,555
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	2265,73	816,98 ^a	1256,07	1,557
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	2250,91	789,33 ^{ab}	1244,45	1,592
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	2237,99	776,16 ^b	1247,02	1,620
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	2241,83	800,45 ^{ab}	1241,16	1,581
Desafio experimental				
Sem	2315,34 ^a	806,02 ^a	1261,52 ^a	1,569 ^b
Com	2184,14 ^b	785,16 ^b	1239,23 ^b	1,604 ^a
CV%	2,63	3,79	2,24	4,30
Dieta	0,785	0,004	0,401	0,060
Desafio	<,0001	0,0029	0,0002	0,0195
Dieta x Desafio	0,520	0,797	0,672	0,802

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p <0,05).

Fonte: O autor (2021)

Tabela 05 – Peso corporal (PC), ganho de Peso (GP), consumo médio de ração (CRM) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 36 a 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio entérico.

	PC (g)	GP (g)	CMR (g)	CA(g:g)
Dietas				
Controle Negativo (CN)	2951,53 ^{ab}	689,15	1416,07	2,064
Controle Positivo (CP)	2952,05 ^{ab}	704,02	1400,42	2,003
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	3024,72 ^a	716,41	1442,20	1,978
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	2993,38 ^{ab}	724,24	1420,13	2,013
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	2929,34 ^b	685,45	1401,75	2,033
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	2986,47 ^{ab}	709,67	1383,66	1,963
Desafio experimental				
Sem	3041,11 ^a	711,93	1435,44 ^a	2,024
Com	2894,97 ^b	696,88	1385,52 ^b	1,993
CV%	2,34	9,94	5,11	5,81
Dieta	0,007	0,590	0,357	0,179
Desafio	<,0001	0,333	0,001	0,216
Dieta x Desafio	0,933	0,932	0,932	0,971

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p <0,05).

Fonte: O autor (2021)

Os dados do período de 21 a 42 dias, após o desafio entérico, bem como do período de 1 a 42 dias são apresentados nas tabelas 6 e 7. Em ambos os períodos se observou que as aves que não foram submetidas ao desafio entérico apresentaram melhor (p<0,05) performance. Para ganho de peso foi observado resultado similar ao período de 36 a 42 dias (Tabela 5), ou seja, as aves alimentadas com o CP + 1,0kg do *blend* de aditivos tiveram o melhor (p<0,05) ganho de peso quando comparadas ao grupo suplementado com CN + 1,0kg do *blend* de aditivos. Para o indicador de conversão alimentar, as aves que receberam a dieta

suplementada com 1,5kg do *Blend* de aditivos/ton apresentaram o melhor ($p < 0,05$) indicador quando comparadas às aves que receberam a dieta isenta de antibiótico melhorador de desempenho e *Blend* de aditivos.

Tabela 06 – Ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de frangos dos 21 aos 42 dias de idade suplementados com *Blend* e/ou AMD para frangos submetidos ou não a um modelo de desafio entérico.

	GP (g)	CMR (g)	CA (g:g)
Dietas			
Controle Negativo (CN)	2559,48 ^b	4193,33	1,640 ^a
Controle Positivo (CP)	2568,61 ^{ab}	4165,08	1,630 ^{ab}
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	2637,57 ^a	4213,50	1,604 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	2603,19 ^{ab}	4182,99	1,615 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	2544,32 ^b	4155,36	1,635 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	2590,65 ^{ab}	4119,81	1,595 ^b
Modelo de desafio			
Controle	2656,27 ^a	4256,18 ^a	1,603 ^b
Desafio	2503,64 ^b	4084,49 ^b	1,638 ^a
CV%	2,68	2,77	2,50
Dieta	0,008	0,332	0,015
Desafio	<,0001	<,0001	<,0001
Dieta x Desafio	0,771	0,870	0,601

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: O autor (2021)

Tabela 07 – Ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de frangos de 1 a 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD para frangos submetidos ou não a um modelo de desafio entérico.

	GP (g)	CMR (g)	CA (g:g)
Dietas			
Controle Negativo (CN)	2883,99 ^{ab}	4647,69	1,613 ^a
Controle Positivo (CP)	2893,10 ^{ab}	4614,16	1,609 ^{ab}
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	2956,58 ^a	4655,47	1,580 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	2930,77 ^{ab}	4629,18	1,594 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	2871,64 ^b	4613,57	1,608 ^{ab}
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	2911,76 ^{ab}	4564,56	1,572 ^b
Desafio experimental			
Sem	2975,54 ^a	4701,29 ^a	1,580 ^b
Com	2832,89 ^b	4537,80 ^b	1,613 ^a
CV%	2,37	2,58	2,40
Dieta	0,017	0,369	0,019
Desafio	<,0001	<,0001	0,0001
Dieta x Desafio	0,889	0,936	0,728

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: O autor (2021)

O empenamento das aves foi avaliado neste estudo sendo mensurado em três diferentes idades, aos 28, 35 e 42 dias (Tabela 8). Houve efeito ($p < 0,05$) do desafio sobre o empenamento das aves aos 28 dias. Aos 28 dias de idade as aves desafiadas apresentaram menor ($P < 0,05$) escore de empenamento quando comparadas às aves não desafiadas,

independentemente das dietas. Aos 35 e 42 dias de idade, não foram observadas diferenças significativas no escore de empenamento.

Tabela 8 – Escore de empenamento (1 a 5) de frangos de corte aos 28, 35 e 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

	28 dias	35 dias	42 dias
Dietas			
Controle Negativo (CN)	3,38	3,13	3,98
Controle Positivo (CP)	3,46	2,96	4,18
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	3,60	3,10	4,38
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	3,44	3,33	4,36
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	3,40	3,23	4,48
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	3,21	3,31	4,31
Desafio experimental			
Sem	3,57 ^a	3,17	4,30
Com	3,26 ^b	3,19	4,27
CV%	13,94	22,09	11,55
Dieta	0,331	0,668	0,082
Desafio	0,002	0,857	0,877
Dieta x Desafio	0,137	0,521	0,218

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: O autor (2021)

O empenamento das aves também foi mensurado de acordo com o peso absoluto (gramas) e relativo (percentual) em relação ao peso corporal aos 42 dias de idade (Tabela 9 e 10). Houve interação ($p < 0,05$) entre dieta e desafio para a variável peso relativo de penas. O desdobramento da interação indica que as aves desafiadas e que receberam dieta CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton apresentaram maior ($p < 0,05$) peso relativo de penas quando comparadas as aves desafiadas e que receberam a dieta CN, CP e CN + 0,5 kg de *Blend* de aditivos/ton. Além disso, as aves desafiadas e alimentadas com dieta CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton também apresentaram maior ($p < 0,05$) peso relativo de penas quando comparadas ao mesmo tratamento, porém sem desafio entérico.

Uma possível explicação para esta diferença é que o peso relativo leva em consideração a relação entre peso absoluto das penas e o peso das aves. Logo, quando o peso absoluto (g) das penas é similar entre os tratamentos, mas o peso corporal é diferente, haverá distinção entre os valores de pesos relativos (%) das penas entre estes tratamentos.

Tabela 9 – Peso absoluto e relativo de penas de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos a um modelo de desafio experimental.

	Peso penas absoluto, g	Peso penas relativo, %
Dietas		
Controle Negativo (CN)	132,88	3,69
Controle Positivo (CP)	125,88	3,58
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	141,19	3,97
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	129,19	3,67
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	140,38	3,89
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	132,88	3,85
Desafio experimental		
Sem	130,13	3,63
Com	137,33	3,92
CV%	19,92	17,45
Dieta	0,533	0,521
Desafio	0,188	0,033
Dieta x Desafio	0,069	0,033

Fonte: O autor (2021)

Tabela 10 – Desdobramento da interação do peso relativo das penas (peso das penas/peso abatido com penas) de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

Desafio experimental	Dieta				Valor de P		
	Controle negativo (CN)	Controle Positivo (CP)	CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton) + AMD	CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)		CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)
Sem	3,91	3,48	3,77	3,70	3,34 ^b	3,59	0,5649
Com	3,47 ^B	3,67 ^B	4,18 ^{AB}	3,65 ^B	4,44 ^{Aa}	4,11 ^{AB}	0,0373
Valor de P	0,243	0,603	0,211	0,887	0,002	0,078	

Letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente na coluna e maiúsculas na linha (teste de Tukey - p <0,05)

Fonte: O autor (2021)

A uniformidade das aves foi avaliada aos 42 dias de idade e não apresentou variação ($p>0,05$) para dietas ou desafio experimental (tabela 11).

Tabela 11 – Uniformidade (CV %) em frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

	CV %
Dietas	
Controle Negativo (CN)	5,78
Controle Positivo (CP)	4,91
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	6,30
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	5,50
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	5,83
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	5,47
Desafio experimental	
Sem	5,53
Com	5,73
CV%	42,92
Dieta	0,7072
Desafio	0,6789
Dieta x Desafio	0,6985

Fonte: O autor (2021)

A análise de rendimento de carcaça e de cortes comerciais, bem como do percentual de gordura abdominal está apresentada na tabela 12. Houve efeito ($p<0,05$) do desafio apenas para rendimento de asas. As aves desafiadas apresentaram maior ($p<0,05$) rendimento de asas quando comparadas ao grupo de aves não desafiadas. Essa ocorrência pode ser explicada em razão de que o peso absoluto da carcaça e de asas nas aves desafiadas foi menor ($p<0,05$) em relação ao peso absoluto da carcaça e das asas de aves não desafiadas. No entanto, ao ser analisado o peso relativo da carcaça e das asas, não houve diferença ($p>0,05$) para peso relativo de carcaça.

Houve interação significativa ($p<0,05$) entre dietas e desafio para o peso relativo da gordura abdominal. O desdobramento da interação (tabela 13) mostrou que aves desafiadas que receberam as dietas CP, CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração e CN + 1,5kg de *Blend* de aditivos/ton de ração apresentaram menor ($p<0,05$) peso relativo de gordura abdominal em comparação com as aves do tratamento CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração. Também, na comparação do rendimento da gordura abdominal entre os grupos desafiados ou não desafiados, observou-se efeito apenas para a dieta CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração. Aves que não foram submetidas ao desafio e receberam a dieta CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração apresentaram menor ($p<0,05$) peso relativo de gordura abdominal em relação as aves do grupo controle.

Aves de corte apresentam alta capacidade de converter os nutrientes disponibilizados nas dietas em carne desde que sejam fornecidas dietas altamente balanceadas, ingredientes de alta qualidade, assim como as instalações, sanidade e práticas de manejo. Dessa forma, o animal consegue se desenvolver de maneira plena geralmente.

Correlacionando estes resultados de interação para o peso relativo de gordura abdominal com o peso corporal, um ponto que pode ter ocasionado o maior peso relativo de gordura abdominal para as aves que foram desafiadas do tratamento CN + 1,0kg do *Blend* de aditivos é o fato de que este grupo apresentou maior dificuldade de recuperação dos demais parâmetros zootécnicos, inclusive tendo menor peso corporal.

Conseqüentemente, o peso relativo da gordura também acabou tendo maior relevância em comparação com os demais grupos desafiados. No entanto, pode ser levado em consideração que um aspecto importante nesse sentido é o balanço e disponibilidade entre energia e proteína disponível ao animal. Nessa situação em que houve maior peso relativo de gordura abdominal o grupo desafiado do tratamento CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton pode não ter sido atendido com o pleno balanço energia: proteína havendo, nessa relação, excesso de energia ou deficiência de proteína.

Na análise da situação oposta, as aves também desafiadas, mas do tratamento CN + 1,5kg do *Blend* de aditivos/ton ração tiveram menor peso relativo de gordura abdominal e apresentaram melhor conversão alimentar. Este pode ser um importante indício sobre o melhor aproveitamento da dieta refletindo em melhor conversão alimentar, assim como melhor qualidade de carcaça com melhor custo de produção.

Tabela 12 – Rendimento de carcaça, rendimento de cortes e % de gordura abdominal de frangos de corte, aos 42 dias de idade, suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

	Carcaça, %	Peito, %	Pernas, %	Asas, %	Dorso, %	Gordura, %
	Peso relativo %					
Dietas						
Controle Negativo (CN)	79,99	38,35	31,71	9,76	20,14	1,44
Controle Positivo (CP)	80,12	38,31	32,01	9,77	19,96	1,41
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	79,82	38,41	31,74	9,75	20,08	1,51
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	80,01	37,99	32,09	9,80	20,03	1,52
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	79,79	37,98	32,05	9,88	20,11	1,59
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	80,07	38,19	31,90	9,78	20,12	1,41
Desafio experimental						
Sem	79,98	38,35	31,95	9,71 ^b	20,01	1,47
Com	79,95	38,07	31,87	9,87 ^a	20,14	1,49
CV%	1,89	4,65	4,03	4,31	4,65	24,78
Dieta	0,698	0,517	0,287	0,446	0,848	0,012
Desafio	0,795	0,078	0,503	<,0001	0,144	0,609
Dieta x Desafio	0,914	0,379	0,662	0,195	0,964	0,048

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Fonte: O autor (2021)

Tabela 13 – Desdobramento da interação do peso relativo da gordura abdominal de frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

Desafio experimental	Dieta						Valor de P
	Controle Negativo (CN)	Controle Positivo (CP)	CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	
Sem	1,40	1,42	1,61 ^a	1,46	1,52	1,43	0,162
Com	1,48 ^{AB}	1,40 ^B	1,42 ^{Bb}	1,58 ^{AB}	1,66 ^A	1,39 ^B	0,002
Valor de P	0,346	0,779	0,026	0,141	0,104	0,607	

Fonte: O autor (2021)

Letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente na coluna e maiúsculas na linha (teste de Tukey - p <0,05)

3.4 DISCUSSÃO

Neste estudo, no período de 1 a 14 dias de idade, fase de criação prévia ao desafio entérico, pode-se observar que não houve efeito das dietas ($p > 0,05$) sobre o desempenho produtivo de pintos machos da linhagem Ross AP95[®] (Tabela 2) indicando que a dieta estava formulada de forma a atender as exigências nutricionais das aves.

Os pesquisadores Leandro *et al.* (2010) e Vale *et al.* (2004) avaliaram, respectivamente, os efeitos da administração *in ovo* de butirato de sódio associado a prebiótico e a administração *in ovo* de butirato de sódio. No estudo de Leandro não foram encontrados efeitos para a suplementação dos aditivos *in ovo* no período de 1 a 10 dias de idade. No caso da avaliação de Vale *et al.* (2004) houve piora de ganho de peso inicial das aves que receberam o aditivo com aplicação via ovo. Os estudos de Santos (2020) e Bortolluzi *et al.* (2017) detectaram que houve melhora do ganho de peso no período inicial de frangos que também receberam um *blend* alimentar. Em outra pesquisa de Bortolluzi *et al.* (2018) foi encontrado efeito ($p < 0,05$) da dieta onde as aves que foram suplementadas com um *blend* alimentar apresentaram melhor taxa de conversão alimentar no período de 1 a 13 dias de idade.

Os diferentes resultados encontrados pelos pesquisadores previamente a aplicação da proposta de desafio de cada estudo indicam que determinados fatores realmente são determinantes no resultado de criação dos animais. Diferentes estruturas de alojamento, qualidade de limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos, qualidade de matéria prima, composição nutricional das dietas, diferentes linhagens genéticas, lotes sexados ou mistos, entre outros acabam influenciando nos resultados produtivos.

Uma possível explicação para não ter ocorrido efeito das dietas na fase inicial de criação dos frangos de corte neste estudo é o baixo ou praticamente inexistente desafio encontrado pelas aves ao serem alojadas. Potencialmente, o uso de levedura hidrolisada, zinco orgânico e os ácidos orgânicos podem auxiliar na saúde e integridade intestinal beneficiando o desenvolvimento dos animais a campo. Ácidos orgânicos são substâncias capazes de modificar o pH do TGI das aves favorecendo a microbiota benéfica e, quando as aves são submetidas às condições de desafio, o fornecimento de ácidos orgânicos melhora o desempenho destas (DIBNER & BUTTIN, 2002; RICKE, 2003).

Após a aplicação do protocolo experimental as aves desafiadas passaram a manifestar diferenças no desempenho produtivo semanalmente em relação ao grupo de aves não desafiado e isso pôde ser observado até o final do ciclo de criação.

Os parasitas do gênero *Eimeria* que acometem frangos de corte têm potencial de causar grandes danos aos animais e significativos prejuízos às empresas e produtores. Os coccídeos são protozoários unicelulares e parasitas intracelulares obrigatórios e as manifestações clínicas da coccidiose aviária podem variar bastante passando por infecção não perceptível até a capacidade de acometer outros órgãos como os rins e fígado, podendo causar a morte da ave. Clinicamente, o dano é dependente do quão afetadas serão as células intestinais pelas formas juvenis do parasita e, devido a este dano tecidual, o animal pode reduzir significativamente a ingestão de alimentos, ter o processo digestivo comprometido e passar a ter má absorção de nutrientes, aumentar a suscetibilidade a outros agentes oportunistas, além de causar uma reação inflamatória que é cara ao organismo (PEREIRA, 2011).

Em razão das diferentes variáveis envolvidas em um desafio sanitário a campo, quando são aplicados protocolos de estudo experimentais, eles necessitam ser efetivos para que atendam aos objetivos propostos no experimento. Neste estudo, o objetivo inicial foi a aplicação do desafio entérico para que fosse capaz de provocar distúrbios sobre a saúde intestinal das aves desafiadas. O comprometimento e a perturbação da saúde intestinal gerados pela aplicação deste protocolo de indução de enterite afetaram a saúde intestinal e o desempenho zootécnico do grupo desafiado tornando possível a posterior avaliação do *Blend* de aditivos alimentares sobre a recuperação da função intestinal.

Dias após a indução experimental do desafio entérico já houve efeito negativo sobre os parâmetros avaliados, provocando alteração significativa da homeostasia intestinal. Mesmo assim, ao final do ciclo de criação, o tratamento com dose de inclusão de 1,5kg *blend* de aditivos resultou em melhor conversão alimentar. Esse ponto é importante de ser salientado, pois geralmente nas condições de criações comerciais a ocorrência dos desafios entéricos não se dá de forma tão abrupta, mas sim, de modo subclínico e contínuo. Neste sentido, se em uma condição altamente desafiadora como essa o aditivo estudado foi capaz de auxiliar na recuperação das aves, os resultados indicam que produto pode contribuir favoravelmente com a saúde intestinal das aves em condições comerciais de criação.

A queda de desempenho das aves desafiadas nessa avaliação está de acordo com diferentes estudos publicados na literatura. Nos estudos de Leung *et al.* (2019) e Wilson *et al.* (2018), também foi observada queda de desempenho das aves submetidas a desafio entérico. No caso da avaliação feita por Leung *et al.* (2019) foi observado que, além do efeito do desafio a dieta interferiu na recuperação das aves divergindo desta avaliação. Ao utilizarem levedura hidrolisada houve melhor recuperação do grupo desafiado.

Após a infecção por coccidiose, outro aspecto importante neste protocolo de estudo que pode ter afetado a qualidade intestinal e, conseqüentemente, o desempenho das aves desafiadas foi a inoculação de cepa de *E. coli* no 16º dia de idade dos frangos de corte.

Muitos pesquisadores consideram que infecções intestinais por *E. coli* não são comuns sendo mais relatadas as infecções do trato respiratório ou através de lesões de celulite (processo infeccioso agudo do tecido subcutâneo). Caso a *E. coli* tenha acesso à corrente sanguínea, em virtude desses processos infecciosos, é possível que ocorra o desenvolvimento de quadro de septicemia pelo deslocamento e chegada da bactéria em outros órgãos (CHRISTENSEN *et al.*, 2006; MOULIN-SCHOULEUR *et al.*, 2007). No entanto, Nolan *et al.* (2020) citam que o entendimento anterior era de que realmente a *E. coli* era um patógeno secundário importante no intestino, mas que necessitava de outros fatores predisponentes como infecções virais, bacterianas, parasitárias, estresse, amônia, entre outros. Atualmente, a *E. coli* permanece como este agente oportunista importante, no entanto, a atenção sobre este agente com real potencial patogênico é cada vez maior, especialmente, em processos infecciosos como em quadros de enterites.

As penas são estruturas que se desenvolvem dentro dos folículos ligados à derme, estando envolvidas na termorregulação e desempenhando papel importante na proteção contra desafios externos e lesões físicas. Nos primeiros dias de vida das aves a penugem apreende o ar formando uma camada isolante próxima à pele, a qual fornece proteção contra o calor ou o frio. Possivelmente essas pequenas penugens tenham funções sensoriais que dão à ave a capacidade de responder ao fluxo de ar direcionando as penas corporais (HARDIMAN & KATANBAF, 2012).

Diversos fatores interferem no desenvolvimento das penas como a nutrição, ambiente, manejo, sexo, idade, sanidade, linhagem. Uma boa cobertura de penas contribui para uma melhor utilização da energia e, quando há perda excessiva de penas por qualquer motivo, fica afetada negativamente a conversão alimentar, pois as aves acabam por destinar parte da energia alimentar disponível para compensar a perda de calor (JAENISCH *et al.*, 2001). Além disso, uma boa cobertura de penas é necessária para a manutenção de uma boa qualidade de carcaça. Em linhas de abate, parte das condenações encontradas são ocasionadas por lesões, calos de peito, arranhões, lacerações, cortes e outros traumas de pele, causados por uma má cobertura de penas (MENDES, 2001).

A avaliação do escore de empenamento é uma ferramenta acessível e por isso, torna-se uma importante opção para o profissional de campo mensurar, de modo visual, o status

sanitário do plantel bem como também servir de subsídio para interpretações ligadas ao campo da nutrição e/ou manejo.

O mau empenamento pode estar associado a fatores sanitários como, por exemplo, no caso de Salmonelose, reovirose, coccidiose, micotoxicoses, entre outras (MEIRELES, 2006; CARNEIRO *et al.*, 2011; HOERR *et al.*, 1981). Essas doenças podem afetar empenamento das por diferentes razões, especialmente por afetarem a integridade intestinal e comprometerem a absorção de nutrientes importantes para o desenvolvimento geral do animal, bem como das penas.

Nutricionalmente, existem diferentes situações que podem afetar o empenamento das aves. Dentre estes fatores podem ser citados a proteína da dieta e aminoácidos específicos e o balanço entre eles nas dietas (metionina, cistina, arginina, isoleucina, leucina, valina, lisina, treonina e triptofano), a relação entre nível de energia da dieta e consumo de proteína, a presença e quantidade de fitato na dieta, o fornecimento de minerais (zinco, manganês, selênio, o cobre e molibdênio) em nível e em qualidade adequados, a relação entre os minerais (principalmente Zinco e Cálcio), fornecimento adequado de vitaminas (a niacina, a colina e a vitamina E), e o balanço eletrolítico das dietas (JAENISCH *et al.*, 2002). Segundo Barbi e Zaviezo (2000), níveis marginais de sódio e potássio e nível elevado de cloro podem ser causa de mau empenamento.

Em casos de desafios sanitários, como é o caso deste estudo, o empenamento das aves pode estar comprometido, especialmente se ocorrerem problemas nas fases iniciais de vida da ave. Segundo relato encontrado na literatura (BILGILI & HORTON, 1995), há indicação de que o período de incubação e os primeiros 21 dias de vida são muito importantes para o desenvolvimento do folículo da pena e empenamento. Alterações na estrutura tecidual do TGI ou alteração da composição da microbiota intestinal em função de desafios sanitários levam a redução da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, haverá menor aporte de energia, proteína, aminoácidos, vitaminas e minerais para o adequado desenvolvimento animal (BOLELI *et al.*, 2002).

Os resultados obtidos no presente estudo, indicam que houve comprometimento da estrutura intestinal afetando, por fim, a capacidade absorptiva do intestino de aves desafiadas. Associado a esse comprometimento intestinal, aves desafiadas tiveram menor escore de empenamento aos 28 dias de idade. O mau empenamento, especialmente nas fases iniciais de criação, pode prejudicar o desempenho zootécnico. Considerável aporte de nutrientes é necessário para a formação das penas que dão suporte à manutenção da temperatura corporal e proteção da pele. Assim, o somatório desses fatores auxilia no entendimento dos motivos

que levaram essas aves a apresentarem menor desempenho produtiva em relação às não desafiadas.

Além de danos e impactos aos tecidos e às funções intestinais quando ocorrem problemas entéricos há outros fatores que devem ser considerados quanto ao peso relativo de penas. Wecke *et al.* (2017) mencionaram que quanto maior a idade, maior a área coberta por penas e maior o peso relativo das penas. Além disso, identificaram que fêmeas apresentam maior peso relativo de penas por terem maior quantidade absoluta delas do que machos.

A interação que houve para o peso relativo de penas aos 42 dias (Tabela 12) associada com outras informações obtidas neste estudo mostram que quanto maior a idade da ave, maior tende a ser o grau de empenamento encontrado, resultado este que é similar ao de Wecke *et al.* (2017). Neste estudo houve a recuperação do grau de empenamento no caso das aves desafiadas e suplementadas com 1,0kg do *blend* de aditivos alimentares. Essas aves tiveram um dos mais baixos pesos de carcaça, mas apresentaram, numericamente, o segundo maior peso absoluto de penas. Desse modo, o alto peso absoluto de penas e baixo peso de carcaça contribuíram para que o peso relativo de penas deste tratamento fosse maior ($p < 0,05$) em comparação as aves do não desafiadas e suplementadas com 1,0 kg do *blend* de aditivos.

Não houve efeito da dieta nem do desafio sobre os resultados de uniformidade das aves aos 42 dias de idade. Fatores como manejo alimentar, genética e ambiência podem ter influência sobre este indicador.

As atuais linhagens genéticas de frangos de corte apresentam índices zootécnicos e produtivos altamente desenvolvidos. A taxa de ganho de peso diário é de, aproximadamente, 72 gramas o que equivale a um ganho de peso corporal de 3 gramas por hora. Esse indicador supera os dados apresentados por Patrício *et al.* (2012) que indicavam um ganho de peso 2,83g por hora.

O completo *turnover* celular intestinal pode variar de 24 a 96 horas representando de 2,38% até 9,52% do tempo de vida de um frango de corte convencional no modelo de abate brasileiro (MURAOLLI, 2008; FURLAN, 2017). Com essas características atuais presentes nas linhagens comerciais, a taxa de recuperação intestinal após lesões leves ou moderadas também é acelerada.

Em relação aos dados da avaliação das carcaças dos frangos de corte foram avaliados os pesos relativos de carcaça, de peito, de perna, das asas, do dorso e a deposição de gordura abdominal (Tabela 12).

Os resultados relativos ao rendimento de carcaça e cortes obtidos neste trabalho não foram influenciados pelos diferentes tratamentos. Entretanto, neste momento em que há

grande interesse em encontrar produtos que possam substituir os antibióticos melhoradores de desempenho, os resultados apresentados nesta avaliação indicam números equivalentes, ou seja, os aditivos alimentares fornecidos às aves apresentaram capacidade similar em comparação com os tratamentos à base de AMD podendo atuar como substitutos a estes.

Evidências positivas em relação ao rendimento de carcaças em frangos de corte suplementados com aditivos alimentares são mencionados na literatura. Em pesquisa realizada por Leeson *et al.*, (2005), o uso de ácido butírico proporcionou aumento de peso de carcaça e maior rendimento de peito em frangos de corte. Em outro estudo, Panda *et al.*, (2009) identificaram que o uso de butirato de sódio melhorou o rendimento de carcaça e reduziu o teor de gordura abdominal em frangos de corte.

Neste estudo, assim como no de Panda *et al.* (2009), também se identificou este ponto favorável ao uso do *blend* alimentar avaliado. Aves que receberam o aditivo alimentar, associado ou não ao AMD, tiveram menor ($p < 0,05$) percentual de deposição de gordura abdominal na carcaça.

Bortolluzi *et al.* (2019) encontraram resultados onde o uso de proteinato de zinco e butirato de sódio auxiliaram no equilíbrio do microbioma intestinal favorecendo ao melhor grau de saúde intestinal e melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. Essa relação favorável de menor deposição de gordura na carcaça encontrada em nosso estudo pode ser atribuída a higidez ou melhor condição de saúde e equilíbrio fisiológico apresentada pelos animais suplementados pelos aditivos alimentares oferecidos na dieta.

3.5 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados neste estudo, independentemente da dieta suplementada aos animais, indicam que o modelo de desafio experimental proposto é adequado para induzir quadro de enterite sendo possível realizar, de forma paralela, a avaliação de aditivos alimentares.

Nas condições propostas neste estudo, o *Blend* alimentar avaliado apresentou respostas que permitem a sua indicação em associação ao AMD (CP + 1,0kg *Blend*/ton) ou mesmo realizar a substituição do AMD pelo *Blend*[®] avaliado, pois as respostas foram similares ou até melhores de acordo com a variável analisada e a dose utilizada do aditivo alimentar (0,5kg *Blend* /ton e 1,5kg *Blend*/ton).

3.6 REFERÊNCIAS

BARBI, J. H. T., Zaviezo, D. **Síndrome do mau empenamento em frangos de corte.** In Simpósio Internacional de Ciências Avícolas, 4., 2000, Uberlândia. Anais... Uberlândia, MG: UFU, 2000. p. 49-65.

BILGILI S. F., Horton, A. B. **Influence of production factors on broiler carcass quality and grade.** In: Proceedings of the XII European Symposium on the Quality of Poultry Meat, Zaragoza, Spain, 1995. p. 13–20.

BOLELI, I. C.; Maiorka, A.; Macari, M. **Estrutura funcional do trato digestório.** In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed.). Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 75-95.

BORTOLUZZI, C.; Pedroso, A. A.; Mallo, J. J.; Puyalto, M.; Kim, W. K.; Applegate, T. J. 2017. Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. **Poult. Sci.**96:3981–3993.

BORTOLUZZI, C., Rothrock, M.J., Vieira, B.S., Mallo, J.J., Puyalto, M., Hofacre, C., Applegate, T.J. Supplementation of protected sodium butyrate alone or in combination with essential oils modulated the cecal microbiota of broiler chickens challenged with coccidia and *Clostridium perfringens*. *Frontiers in Sustainable Food Systems* V.2, 2018 p.72 URL=<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsufs.2018.00072> DOI=10.3389/fsufs.2018.00072 ISSN=2571-581X

BORTOLUZZI C., Vieira, B.S., Lumpkins, B., Mathis, G.F., King, W.D., Graugnard, D., Dawson, K.A., Applegate, T.J. **Can dietary zinc diminish the impact of necrotic enteritis on growth performance of broiler chickens by modulating the intestinal immune-system and microbiota?** *Poult Sci.* 2019 Aug 1;98(8):3181-3193. doi: 10.3382/ps/pez045. PMID: 31220319.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa, n.3°.** Brasília - DF. 2000

CALIK A., ERGÜN A. Effect of lactulose supplementation on growth performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. **Poultry Science.** 94(9):2173–2182, 2015.

CARNEIRO, M. B.; Calais, A.; Martins, I. V. F. **Avaliação Coproparasitológica e Clínica de Aves Silvestres e Exóticas Mantidas em Criatórios Particulares no Município de Alegre-ES.** *Ciência Animal Brasil*, v.12 p.525-529, 2011.

CHRISTENSEN, J.P., Chadfield, M.S., Olsen, J.E., Bisgaard, M. **The gastrointestinal tract as a port of entry for bacterial infections in poultry in:** PERRY, G.C. **Avian Gut Function in Health and Disease**, Cab International, Wallingford, 2006. v. 28, cap. 16, p. 244-258

COOPER, M.A., Washburn, K.W. The relationships of temperature to weight gain, feed consumption, and feed utilization in broilers under heat stress. **Poultry Science** 1997; 77: 237-42.

DIBNER, J. J.; Buttin, P. **Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism.** Journal of Applied Poultry Research, v. 11, p. 453-463, 2002.

EDENS F.W. (1996): **Organic selenium: from feathers to muscle integrity to drip loss: five years onward: no more selenite! Biotechnology in the Feed Industry.** In: Proceedings of Alltech's 12th Annual Symposium (Nottingham, Nottingham United Press). 165–185.

FURLAN, R.L. (2017). Saúde intestinal x produtividade de poedeiras. In: XIV Curso de Atualização em Avicultura para Postura Comercial, 13 a 15 de setembro de 2017. **Anais.** Jaboticabal-SP: Unesp/FCAV, 89-108.

HARDIMAN, J., Katanbaf, M. **Good feather cover for optimising energy utilisation.** Poultry World, 2012. Disponível em: <
<https://www.poultryworld.net/Broilers/Nutrition/2012/7/Good-feather-cover-for-optimising-energy-utilisation-WP010672W/>> . Acesso em: 30 Nov 2021.

HOERR, F. J., Carlton, W. W., Yagen, B. **Mycotoxins caused by single dose of T-2 toxin or diatoxycirpenol in broiler chickens.** Veterinary Pathology, 18, p. 652–664, 1981.

JAENISH, F.R.F., Barbi, J.H., Ribeiro, A.M.L. **Mau empenamento.** **Avicultura Industrial**, fev., p. 20–27, 2001.

KEERGIN, C., Morgan, N., Wu, S.B., Swick, R.A., Choct, M. Dietary inclusion of arabinoxyl- oligosaccharides in response to broilers challenged with subclinical necrotic enteritis. **British Poultry Science** 58(4):418–424, 2017.

KISIELINKI, K., Willis, S., Prescher, A., [Klosterhalfen](#), B., [Schumpelick](#), V. **A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat.** Clin. Exp. Med., v.2, p.131-135, 2002

LEANDRO, N. S. M.; Oliveira, A. S. C. De; Café, M. B.; Gonzales, E.; Stringhini, J. H.; Andrade, M. A. **Efeito do prebiótico e do ácido butírico in ovo sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes da ração e biometria do trato gastrointestinal de pintos submetidos ao jejum.** *Ciência Animal Brasileira, [S. l.]*, v. 11, n. 4, p. 806–816, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/5088> . Acesso em: 19 nov. 2021.

LEKSHMI, M., P. Ammini, S. Kumar, and M. F. Varela. 2017. **The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin.** **Microorganisms.** 5:11–25.

LEESON, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., and Lee, E. H.: Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens, **Poultry Sci.**, 84, 1418–1422, 2005.

LEUNG, H., Yitbarek, A., Snyder, R., Patterson, R., Barta, J. R., Karrow, N., Kiarie, E. (2019). Responses of broiler chickens to *Eimeria* challenge when fed a nucleotide-rich yeast extract. *Poultry science*, 98(4), 1622–1633. <https://doi.org/10.3382/ps/pey533>

LOWE, P.C., Merkle, J.W. Association of genotypes for rate of feathering in broilers with production and carcass composition traits. *Poultry Science*. 1985; 65: 1853-58.

MAPA. Instrução Normativa Número 1. **Diário Oficial da União**, 2020.

MAPA. Instrução Normativa Número 45. **Diário Oficial da União**, 2017.

MEIRELES, M. V. **Eimeriose Aviária**. In: Andreatti Filho, R. L. Saúde Aviária E Doenças. São Paulo, Roca, 2006, p.256 – 258.

MELLATA, M., Dho-Moulin, M., Dozois, C.M., Curtiss III, R., Brown, P.K., Arné, P., Brée, A., Desautels, C., **Fairbrother, J.M. Role of virulence factors resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity**. *Infection and Immunity*, v. 71, n. 1, p. 536-540, 2003.

MENDES, A.A. **Rendimento e qualidade de carcaça de frangos de corte**. In.: CONFERÊNCIA APINCO'2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas, SP. Anais... Campinas: Facta, 2001. V.3, 125p, p.3.

MOULINSCHOULER, M., Répérant, M., Laurent, S., Bree, A., Mignon-Grasteau, S., Germon, P., Rasschaert, D., Schouler, C. **Extra-Intestinal pathogenic *Escherichia coli* of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns**, *Journal Clinical Microbiology*. v. 45, p.3366-3376, 2007

MORE, S. J. European Perspectives **On Efforts to Reduce Antimicrobial Usage In Food Animal Production**. *Irish veterinary journal*, v. 73, p. 2-12. (2020) doi: [10.1186/s13620-019-0154-4](https://doi.org/10.1186/s13620-019-0154-4)

M'SADEG, S. A., S. Wu, R. A. Swick, and M. Choct. 2015. **Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide**. *Anim. Nutr.* 1:1–11.

MURAOLLI, V.D.A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em nutrição e produção animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 101. 2008.

NAZEER, N, Uribe-Diaz, S., Rodriguez-Lecompte, J.C., Ahmed, M. Antimicrobial peptides as an alternative to relieve antimicrobial growth promoters in poultry. *British Poultry Science*, 62:5, 672-685, 2021. DOI: [10.1080/00071668.2021.1919993](https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1919993)

NOLAN, L.K., Vaillancourt, J.-P., Barbieri, N.L., Logue, C.M. Colibacillosis. *Diseases of Poultry*, 14. Ed., p. 770-830, 2020.

OECD/FAO (2021), OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030, OECD Publishing, Paris. <https://www.fao.org/publications/oecd-fao-agricultural-outlook/2021-2030/en/> .

PANDA, A.K., Rao, S.V., Raju, M.V., Sunder, G.S. **Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens.** Asian-Australas J Anim Sci. (2009) 22:1026–31. doi: 10.5713/ajas.2009.80298

PARISH, W. E. 1961. **Necrotic enteritis in the fowl. I. Histopathology of the examination of the causal *Clostridium perfringens* II. The experimental diseases.** Journal of Comparative Pathology 71, 377-404.

PATRÍCIO, I.; Mendes, A.; Ramos, A.; Pereira, D. 2012. Overview on the performance of Brazilian broilers (1990 to 2009). **Revista Brasileira de Ciências Avícola.** 14:233-238.

PEREIRA, L. Q. *Isospora Bocamontensis* Apud In: Pereira, et al., [2011] (Protozoa: Apicomplexa) **Em Cardeais-Amarelo Gubernatrix Cristata (Vieillot)** (Passeriformes: Emberezidae). Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria (UFMS), RS, Santa Maria, 2011.

PICKLER L., Hayashi, R.M., Lourenço, M.C., Miglino, L.B., Caron, L.P. et al. **Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, 2012; 32(1), 27-36.

RICKE, S.C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

SAKOMURA, N. K., Rostagno, H. S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos.** 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2016. v. 1. 163p.

SALIM, H. M., Jo, C., Lee, B. D. 2008. **Zinc in broiler feeding and nutrition.** Avian Biol. Res. 1:5–18.

SANTOS, N.G. **Suplementação de prebióticos (Actigen® e Blend™) em dietas de frango de corte de 1 a 21 dias de idade.** 2020. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 31p.

SANTOS, A.M. **Utilização de prebióticos em dietas de frango de corte de 22 a 42 dias de idade.** 2020. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 7p.

VALE, M.M., Menten, J.F.M., Morais, S.C.D., Brainer, M.M.A. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 371-375, 2004.

VERMEULEN, A.N., Schaap, D.C., Schetters, T.M. 2001. **Control of coccidiosis in chickens by vaccination.** Vet. Parasitol. 100:13–20.

WEGENER, H.C. **Antibiotic resistance- linking human and animal health. In: Institute of medicine improving food safety through a one health approach: workshop summary,** 15. National Academies Press, 2012.

WECKER, Christian & Khan, Daulat & Sünder, Angela & Liebert, Frank. (2017). **Age and Gender Depending Growth of Feathers and Feather-Free Body in Modern Fast Growing Meat-Type Chickens**. Open Journal of Animal Sciences.

WILSON, K.M., Chasser, K.M., Duff, A.F., Briggs, W.N., Latorre, J.D., Barta, J.R., L.R. Bielke, L.R. 2018. **comparison of multiple methods for inductions of necrotic enteritis in broilers**. I. J. Appl. Poult. Res. 0:1–13.

4. SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM UM BLEND DE ADITIVOS ALIMENTARES E DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do uso de um *blend* de aditivos alimentares sobre a performance animal, a capacidade proliferativa das células intestinais (PCNA), a produção de ácidos graxos de cadeia curta e a morfometria intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente. Foram utilizados 3.936 frangos de corte machos (Ross AP95[®]) com 01 dia de idade, distribuídos em esquema fatorial 6x2 com 12 tratamentos e 8 repetições de 41 aves por box. Os tratamentos experimentais foram: 1) Controle negativo (CN) sem AMD; 2) Controle positivo (CP) com AMD; 3) CP + 1,0kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração; 4) CN + 0,5kg, %) CN + 1,0kg e 6) CN + 1,5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração Vs desafiados ou não. Aos 14 dias de idade, as aves dos grupos desafiados receberam inoculação no ingluvío de vacina para coccidiose contendo 20 vezes a dose recomendada pelo fabricante. Essas mesmas aves, dois dias após (16^o dia), também receberam um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC[®] 8739TM) com uma concentração calculada de 10⁹ UFC/ave aplicado diretamente no ingluvío. O modelo de desafio entérico proposto, independentemente do tipo de dieta (basal ou suplementada com AMD/*Blend* de aditivos), foi capaz de induzir quadro de doença entérica. Apesar de não ter sido constatado efeito sobre a quantificação de células PCNA-positivas ($p > 0,05$), houve alteração na morfometria intestinal com menor área de absorção e influência sobre a produção de AGCC com maior concentração de ácido acético no grupo das aves desafiadas. Além disso, as aves desafiadas apresentaram pior ($p < 0,05$) desempenho produtivo. A respeito do uso do aditivo alimentar avaliado neste estudo, os resultados foram similares quando comparados aos demais grupos que receberam AMD indicando que o produto pode trabalhar em sinergia ou mesmo substituir o antibiótico sem causar prejuízos ao desempenho ou à saúde animal.

Palavras-chave: Coccidiose, *Escherichia coli*, enterite, frangos de corte, morfometria intestinal, saúde intestinal.

4. EFFECTS OF THE USE OF A BLEND OF FEED ADDITIVE ON THE INTESTINAL HEALTH OF EXPERIMENTALLY CHALLENGED BROILERS

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effects of using a blend of feed additives on animal performance, intestinal cell proliferative capacity (PCNA cells), production of short-chain fatty acids and intestinal morphometry of experimentally challenged broilers. A total of 3,936 male broilers (Ross AP95®) with 01 day of age were used, distributed in a 6x2 factorial scheme with 12 treatments and 8 replications of 41 birds per box. The experimental treatments were: 1) Negative control (NC) without AGP; 2) Positive control (PC) with AGP; 3) PC + 1.0kg of Blend of additives/ton of feed; 4) NC + 0.5kg, %) NC + 1.0kg and 6) NC + 1.5kg Blend of additives/ton of feed Vs challenged or not. At 14 days of age, birds in the challenged groups were inoculated into the coccidiosis vaccine pool containing 20 times the dose recommended by the manufacturer. These same birds, two days later (16th day), also received an inoculum containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) with a calculated concentration of 10⁹ CFU/bird applied directly to the flock. The proposed enteric challenge model, regardless of the type of diet (baseline or supplemented with AGP/Blend of additives), was able to induce enteric disease. Although there was no effect on the quantification of PCNA-positive cells ($p>0.05$), there was a change in intestinal morphometry with a smaller area of absorption and influence on the production of SCFA with a higher concentration of acetic acid in the group of birds challenged. In addition, challenged birds showed worse ($p<0.05$) productive performance. Regarding the use of the food additive evaluated in this study, the results were similar when compared to the other groups that received AGP, indicating that the product can work synergistically or even replace the antibiotic without causing damage to animal performance or health.

Keywords: Broilers, Coccidiosis, enteritis, *Escherichia coli*, intestinal morphometry, intestinal health.

4.1. INTRODUÇÃO

É de grande importância a relação existente entre o setor de produção de alimentos oriundos da cadeia avícola com a saúde pública. O uso de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) na criação animal está cada vez mais restrito e proibido em diversos países em razão da possível indução de resistência cruzada de bactérias com potencial patogênico para seres humanos (CARDINAL et al., 2019; TANG et al., 2017). Nesse contexto, é crescente a importância da realização de pesquisas para se identificar estratégias de substituição dos AMD aliadas ao controle de patógenos e de enfermidades bem como potencializar os resultados zootécnicos dos frangos.

Por motivos variados, diferentes enfermidades comuns na avicultura industrial geram preocupação aos profissionais da área. Em função da mortalidade, sintomatologia, perda no desempenho zootécnico, embargos comerciais ou riscos à saúde pública as enfermidades devem ser evitadas.

Quadros de doenças entéricas estão entre as principais causas de prejuízos à produção de frangos de corte e, certamente a coccidiose aviária se destaca entre as doenças com maior impacto para a cadeia avícola comprometendo o bem-estar animal e a produtividade econômica. Em recente estudo de Blake *et al.*, (2020), os pesquisadores estimam que os custos atuais gerados por perdas globais durante a produção, profilaxia e tratamento com a coccidiose sejam superiores a 10 bilhões de euros anuais.

A coccidiose aviária é causada por protozoários do gênero *Eimeria* que, ao se replicarem em diferentes porções do trato gastrointestinal, invadem e rompem células desestabilizando a homeostasia intestinal comprometendo a digestão dos alimentos e a absorção dos nutrientes (Shirley *et al.*, 2005). Esta enfermidade entérica pode ser agravada em razão de fatores como, por exemplo, a colibacilose aviária causada por cepas patogênicas da bactéria *Escherichia coli* (APEC).

As cepas APEC podem ocasionar infecções de forma direta ou indiretamente se valendo de quadro entérico primário (MELLATA *et al.*, 2003; NOLAN *et al.*, 2020) agravando o panorama clínico dos animais acometidos. Muitas vezes essa infecção mista, causada por diferentes agentes (enterite inespecífica), torna o diagnóstico inconclusivo dificultando as tomadas de decisão e retardando a solução do problema em questão (MESA *et al.*, 2014) ocasionando significativas perdas produtivas.

Ácidos orgânicos, prebióticos, minerais orgânicos e outros aditivos alimentares, são exemplos de produtos largamente utilizados em dietas de frangos de corte e que auxiliam na

busca por melhores resultados a campo. Alguns destes produtos são avaliados como possíveis substitutos aos AMD podendo apresentar efeitos positivos sobre o desempenho zootécnico, estímulos imunomoduladores, modulação de microbiota intestinal e efeito trófico sobre a mucosa intestinal melhorando a digestão e absorção de nutrientes (BORTOLUZZI *et al.* 2017; GOTTARDO *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2021).

Por definição, os ácidos orgânicos são moléculas providas de grupo carboxila, podendo se apresentar de maneira dissociada (COOH^-) ou não (R-COOH), e quando metabolizados podem gerar compostos como aminoácidos, ácidos graxos, metabólitos intermediários e coenzimas (LEHNINGER *et al.*, 1993; DIBNER & BUTTIN, 2002; PICKLER, 2012). Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) constituem um grupo de moléculas que contêm de um a sete átomos de carbono, compondo uma cadeia linear ou ramificada. Eles se originam principalmente da fermentação bacteriana intestinal de materiais vegetais, como celulose, fibras, amidos e açúcares, uma vez que as aves não possuem as enzimas necessárias para digerir esses compostos (GUILLOTEAU *et al.*, 2010). Dentre os principais AGCC, o butirato de sódio tem sido um dos mais predominantes (ASHAN *et al.*, 2016; BORTOLUZZI *et al.*, 2018).

Existem diferentes hipóteses quanto aos mecanismos de ação dos acidificantes, dentre as quais: a alteração da microbiota intestinal por ação bactericida ou bacteriostática, redução do pH estomacal (suínos) ou do papo (aves), melhor atividade de enzimas, proliferação, diferenciação e maturação de células intestinais, além da manutenção da integridade da barreira intestinal e, em consequência, maior eficiência alimentar e ganho de peso (RODRIGUEZ-PALENZUELA, 2000; MAIORKA *et al.*, 2004; MONTEIRO, 2004; BORTOLUZZI *et al.* 2017).

Prebióticos são ingredientes nutricionais não digeríveis na porção proximal do trato gastrointestinal que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento de um limitado grupo de bactérias no intestino (ZHANG, *et al.*, 2021). Os prebióticos destacadamente mais estudados em produção animal são os oligossacarídeos como os frutoligossacarídeos (FOS), os galactoligossacarídeos (GOS) e os mananoligossacarídeos (MOS)). O MOS tem a capacidade de se ligar à determinadas fímbrias de bactérias patogênicas eliminando essas bactérias do trato gastrointestinal tornando o ambiente intestinal favorável à colonização de bactérias benéficas do filo bacteroidetes (BOZKURT *et al.*, 2008; CORRIGAN *et al.*, 2017).

Alguns elementos nutricionais são considerados essenciais ao desenvolvimento animal e este é o caso do micromineral Zinco (Zn). Estudos mostram a importância do Zn -

especialmente na forma orgânica, pois é mais biodisponível em comparação ao Zn inorgânico para o desempenho normal e/ou recuperação de animais acometidos por enfermidades entéricas. (Bortoluzzi et al., 2019). O Zn também desempenha papel crucial no crescimento, auxilia na regeneração e na permeabilidade tecidual (MacDonald, 2000; Zhang & Guo, 2009), no sistema imunológico e inflamação (Prasad *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2015) e na composição do microbioma intestinal (Shao *et al.*, 2014).

Atualmente, em razão de haver significativos investimentos e pesquisas no desenvolvimento de novos produtos, há disponível no mercado *blends* de aditivos alimentares. O uso de um *blend* de aditivos alimentares, desde que formulado de modo equilibrado, associado ou não ao AMD pode auxiliar na obtenção de melhores resultados zootécnicos e econômicos, pois os princípios ativos vão atuar em sinergia proporcionando melhor saúde intestinal aos animais. Além disso, quando se faz uso de um *blend* de aditivos em uma fábrica de rações se otimiza fabricação da ração bem como se agrega maior segurança ao processo fabril ao reduzir a quantidade de produtos a serem dosados pelos colaboradores.

Em razão deste cenário, este estudo objetivou avaliar os efeitos do uso de um *blend* de aditivos alimentares sobre o desempenho animal, a capacidade de proliferação das células intestinais, a morfometria intestinal e a produção de ácidos graxos de cadeia curta de frangos de corte submetidos a uma proposta de desafio entérico associado ou não ao uso de antibiótico melhorador de desempenho.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. Todos os procedimentos com uso de animais foram atendidos sendo este trabalho submetido à avaliação e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR - Setor Palotina (Protocolo 18/2020).

Foram utilizados 3.936 frangos de corte machos da linhagem Ross AP95[®] com 01 dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 2 totalizando 12 tratamentos com 8 repetições de 41 aves por box.

Os tratamentos experimentais consistiram em 1) Controle Negativo (CN) sem antibiótico melhorador de desempenho; 2) Controle Positivo (CP) com antibiótico melhorador de desempenho (bacitracina de zinco); 3) CP + 1.0kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração; 4) CN + 0,5kg; 5) CN + 1,0kg e 6) CN + 1,5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração Vs com

ou sem desafio entérico. O *blend* de aditivos utilizado foi o produto comercial Viligen® composto por butirato de sódio encapsulado (BSE), levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja seguindo as recomendações nutricionais das agroindústrias locais para as idades de 1 a 21 dias (inicial), de 22 a 35 dias (crescimento) e de 36 a 42 (abate) (Tabela 1). Água e alimento foram fornecidos *ad libitum* durante todo o período experimental. As aves foram alojadas em cama de maravalha e a temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico das aves considerando cada fase de criação. O manejo de criação e o programa de estímulo luminoso foram seguidos de acordo com recomendações contidas no manual de criação de frangos de corte da linhagem Ross AP95. O programa vacinal foi realizado no incubatório (vacinas de Marek, Gumboro e Bronquite).

Aos 14 dias de idade, os grupos de aves desafiadas receberam aplicação da vacina comercial Bio-Coccivet R® para coccidiose com as espécies *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*. Previamente à aplicação foi realizada a esporulação dos oocistos pela injeção de O₂ diretamente em tubos Falcon com a vacina, os quais foram rapidamente lacrados e mantidos em estufa incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) a 28°C durante 48 horas. A vacina foi inoculada diretamente no inglúvio de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina (± 80.000 oocistos esporulados). Dois dias após, um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10⁹ UFC/ave foi preparado e fornecido diretamente no inglúvio de cada ave dos grupos desafiados.

TABELA 1 - Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Ingredientes	Dietas		
	Inicial (1 a 21 dias)	Crescimento (22 a 35 dias)	Abate (36 a 42 dias)
Milho	577,09	596,07	699,27
Farelo de Soja 46%	376,09	357,70	259,66
Óleo de Soja Degomado	8,08	19,06	16,16
Fosfato bicálcico	10,61	7,13	3,69
Calcário calcítico	11,28	8,70	8,14
Sal comum (NaCl)	5,06	4,81	4,55
Lisina sulfato	3,22	0,54	2,83
DL-Metionina 99%	3,21	2,02	1,99
L-Treonina 98%	0,48	.	0,15
Colina 60%	0,87	0,36	0,15
Premix Min. ¹	1,00	0,90	0,80
Premix Vit. ²	1,30	1,00	0,70
Inerte ³	1,50	1,50	1,50
Allzyme SSF E+C ⁴	0,20	0,20	0,20
Níveis Nutricionais			
Energia Met., Kcal/Kg	3.050	3.150	3.250
Proteína Bruta %	23,00	22,00	18,50
Sódio %	0,22	0,21	0,20
Cálcio %	0,97	0,76	0,64
Ca/Pd %	1,94	1,90	2,00
Cloro %	0,36	0,34	0,33
Fósforo Disponível %	0,50	0,40	0,32
Lisina Dig. Aves %	1,30	1,12	1,01
Met.+Cist Dig.Aves %	0,96	0,83	0,75
Treonina. Dig.Aves %	0,84	0,77	0,66
Triptofano Dig.Aves %	0,26	0,25	0,20
Leucina Dig Aves %	1,70	1,70	1,70
Isoleucina Dig. Aves %	0,82	0,82	0,82
Valina Dig. Aves %	0,98	0,95	0,79
Arginina Dig.Aves %	1,47	1,41	1,14

^{1,2} Premix vitamínico e mineral: Vitamina A (KUI/kg 6.000,000); Vitamina D3(KUI/kg 1.750,000); Vitamina E (mg/kg 15.000,000) Vitamina K3 (mg/kg 1.500,000); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 1.500,000); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 4.000,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 2.500,000); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mcg/kg 10.000,000); Niacina (mg/kg 20.000,000); Acido Pantotênico (mg/kg 9.000,000); Ácido Fólico (mg/kg 1.250,000); Biotina (mcg/kg 120.000,000); Manganês orgânico (50-I/45-C1/40-A mg/kg); Zinco orgânico (40-

I/36C1/32-A mg/kg); Ferro orgânico (30-I/27-C1/24-A mg/kg); Cobre orgânico (6-I/5,4-C1/4,8-A mg/kg); Iodo (2,0-I/1,8-C1/1,6-A mg/kg); selênio orgânico (18-I/16-C1/14-A mg/kg); BHT (mg/kg 75,000);

³ Inerte: substituído pelo *Blend* de aditivos ou pela Bacitracina de zinco 15% (55 ppm de princípio ativo)

⁴ Allzyme SSF E+C (Complexo enzimático): Protease (mín.) 700u/g; Fitase (mín.) 300u/g (SPU); Celulase (mín.) 40 u/g.

4.2.1 Avaliação do desempenho das aves pós-desafio

Para a avaliação do desempenho produtivo na idade de 15 a 21 dias período, seguinte ao desafio experimental, as aves foram pesadas, assim como a sobra de ração fornecida.

4.2.2 Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal

Para avaliar a permeabilidade intestinal foi utilizada a administração oral de Isotiocianato de Dextrano de Fluoresceína (FITC-d) e quantificada a passagem para a corrente sanguínea. Aos 19 dias, 2mL de FITC-d foi administrado por via oral a 2 aves/repetição. Depois de 2 horas da administração oral, as aves foram sacrificadas e o sangue foi colhido para determinar a concentração de FITC-d/mL no soro. Quanto maior a permeabilidade intestinal, maior o nível de FITC-d no sangue. O FITC-d, é uma molécula comum para a quantificação da inflamação entérica, uma vez que em condições adequadas de integridade intestinal ela não atravessa a mucosa do trato gastrointestinal. No entanto, quando ocorre um rompimento das junções oclusivas (*Tight junctions*), por inflamações entéricas, o FITC-d pode chegar à circulação e ser detectado. Esse rompimento está associado a um bloqueio na síntese de proteínas que fazem parte das junções oclusivas.

4.2.3 Morfometria intestinal

Aos 19 dias de idade, 2 aves/repetição (16 aves/tratamento) foram sacrificadas e obtidos fragmentos individuais de aproximadamente 5 cm de comprimento do duodeno, jejuno, íleo e ceco, os quais foram submetidos a cortes semi-seriados de 5 µm de espessura e corados por hematoxilina e eosina para realização de estudo morfométrico intestinal das imagens (BEČAK, 1976). As imagens dos cortes intestinais foram capturadas por meio da microscopia de luz (objetiva 10x), utilizando-se o sistema analisador de imagens computadorizado *Image Pro-Plus* - Versão 5.2 – Média Cibernética. Neste estudo foram mensurados o comprimento e a largura de 20 vilos e a profundidade e a largura de 20 criptas de cada lâmina. Estas medidas morfométricas foram utilizadas para o cálculo da área da superfície de absorção da mucosa intestinal, através da fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002).

$$\text{Área de absorção: } \frac{(LV \times AV) + (LV/2 + LC/2)^2 - (LV/2)^2}{(LV/2 + LC/2)^2}$$

Onde: LV: largura de vilo, AV: altura de vilo, LC: largura de cripta.

4.2.4 Análise da capacidade proliferativa das células intestinais

As amostras de jejuno colhidas aos 19 dias de idade foram emblocadas em parafina e submetidas ao corte de 5µm de espessura. Os cortes foram depositados sobre lâminas sinalizadas e a atividade proliferativa das células intestinais foi analisada por imunohistoquímica para PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*). O PCNA (anti-PCNA; FL-261; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, Ca, USA) foi detectado utilizando um anticorpo policlonal de coelho (*rabbit polyclonal antibody*) contra os aminoácidos 1-261 do PCNA humano.

De cada lâmina foram capturadas cinco imagens da região da base e do meio do vilo (objetiva de 40x). Para cada imagem obtida foram quantificadas as células PCNA positivas nestas regiões por mm².

4.2.5 Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta em conteúdo cecal

Para determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), foi retirado todo o conteúdo cecal das mesmas aves utilizadas para análise morfométrica da mucosa intestinal. Dois gramas do conteúdo foram diluídos em NaOH, homogeneizado e posteriormente foi centrifugado a 3.000 rpm por 5 minutos. Do sobrenadante, foi coletado 1 mL, o qual foi armazenado em microtubo tipo eppendorf, acrescido de 0,2 ml de ácido fórmico P.A. e acondicionado em congelador a -18°C até o momento da análise. A concentração dos AGCC foi realizada através de cromatografia gasosa, equipado com coluna 80/120 CarbopackTM B-DA*/4% Carbowax[®] 20M.

4.2.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos no experimento foram tabulados e analisados, utilizando-se análise de variância (ANOVA), do procedimento General Lineal Model (GLM), com auxílio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, versão 9.4). Quando significativas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05).

4.3 Resultados

A tabela 2 indica os resultados obtidos na semana pós-infecção (15 a 21 dias de idade). Houve interação ($p < 0,05$) entre a dieta e o desafio experimental para o peso corporal. O desdobramento da interação (tabela 3) mostrou que as aves não desafiadas apresentaram peso corporal maior ($p < 0,05$) quando comparado ao peso corporal das aves desafiadas para todas as dietas propostas evidenciando a efetividade da proposta de desafio entérico aplicada neste estudo. Cabe ressaltar que mesmo para aqueles tratamentos em que havia a inclusão do AMD na ração (associado ou não ao *Blend* de aditivos alimentares) o antibiótico não foi capaz de reparar o efeito do desafio sanitário sendo essa uma situação que também pode ser observada em granjas comerciais.

Com relação aos demais parâmetros de desempenho avaliados, como o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, observou-se que as aves desafiadas apresentaram pior desempenho produtivo ($p < 0,05$) independentemente das dietas fornecidas (Tabela 2).

Tabela 02 – Peso corporal (PC), ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA) de frangos de corte de 15 a 21 dias de idade submetidos ou não a desafio entérico

Dietas	PC (g)	GP (g)	FI (g)	CA(g:g)
Controle Negativo (CN)	832,67	457,73	584,69	1,281
Controle Positivo (CP)	820,52	446,65	581,77	1,297
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	824,68	456,57	588,98	1,261
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	833,72	455,57	582,66	1,287
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	829,30	451,71	582,58	1,309
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	825,40	452,44	574,96	1,292
Desafio experimental				
Sem	859,41	490,24 ^a	608,54 ^a	1,253 ^b
Com	796,02	416,65 ^b	559,55 ^b	1,324 ^a
CV%	2,78	4,38	5,27	4,32
Dieta	0,566	0,645	0,921	0,476
Desafio	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
Dieta x Desafio	0.036	0.205	0.494	0.458

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de F ($p < 0,05$)

Fonte: O autor (2021)

Tabela 03 – Desdobramento da interação do peso corporal de frangos de corte de 15 a 21 dias de idade suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

Desafio experimental	Dieta						Valor de P
	Controle Negativo (CN)	Controle Positivo (CP)	CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	
Sem	856,42 ^a	840,99 ^a	871,09 ^a	866,99 ^a	861,17 ^a	859,79 ^a	0,229
Com	808,92 ^b	800,05 ^b	778,26 ^b	800,45 ^b	797,42 ^b	791,02 ^b	0,113
Valor de P	0,005	0,018	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p <0,05).

Fonte: O autor (2021)

O grau de permeabilidade da mucosa intestinal foi analisado neste estudo 5 dias após a aplicação do desafio de coccidiose e 3 dias após a inoculação de *E. coli*. A avaliação deste indicador não apresentou alteração ($p>0,05$) entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4 – Níveis séricos de isotiocianato de fluoresceína (FITC-d) aos 19 dias de idade (3 dias após a inoculação de *E. coli*) de frangos de corte suplementados com Blend de aditivos e/ou AMD submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

	FITC-d
Dietas	
Controle Negativo (CN)	0,262
Controle Positivo (CP)	0,253
CP + Blend (1,0 kg/ton)	0,241
CN + Blend (0,5kg/ton)	0,254
CN + Blend (1,0kg/ton)	0,258
CN + Blend (1,5kg/ton)	0,241
Desafio experimental	
Sem	0,253
Com	0,250
CV%	
Dieta	0,604
Desafio	0,715
Dieta x Desafio	0,941

Fonte: O autor (2021)

A morfometria da mucosa intestinal foi mensurada e os resultados estão descritos nas tabelas 5, 6 e 7 (duodeno, jejuno e íleo, respectivamente).

Os resultados da morfometria da mucosa intestinal do duodeno de frangos de corte, aos 19 dias de idade (Tabela 5), indicaram que as aves que foram submetidas ao desafio apresentaram maior ($p<0,05$) largura de vilo e profundidade da cripta, bem como menor ($p<0,05$) relação vilo:cripta e menor área de absorção quando comparadas com as aves não desafiadas.

Essa estrutura morfométrica apresentada na região duodenal corrobora com os dados de desempenho dos animais, ou seja, animais não desafiados apresentaram melhor condição do tecido intestinal na região do duodeno aos 19 dias de idade o que permitiu melhor desenvolvimento. Além disso, no caso de animais desafiados a própria

multiplicação intracelular dos parasitas (*Eimeria*) afeta a estrutura morfológica do intestino podendo aumentar o tamanho de células e vilos.

Os resultados da morfometria da mucosa intestinal do jejuno de frangos de corte, aos 19 dias de idade (Tabela 6), indicaram que as aves submetidas ao desafio apresentaram menor ($p<0,05$) comprimento de vilo, menor relação vilo:cripta e menor área de absorção intestinal também corroborando com os dados de desempenho. A profundidade da cripta da mucosa intestinal de animais que foram desafiados foi maior ($p<0,05$) em comparação aqueles não desafiados.

Esta análise da morfometria da mucosa intestinal do jejuno também mostrou que houve interação ($P<0,05$) entre dieta e desafio experimental para largura de vilo e largura de cripta. Os resultados estão presentes na Tabela 7.

Ao desdobrar a interação para largura de vilo do jejuno, pode se observar que as aves alimentadas com as dietas CP e CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração apresentaram diferença quando comparados os grupos desafiados e não desafiados. O grupo não desafiado e alimentado com a dieta CP apresentou menor ($p<0,05$) medida de largura de vilo do que o grupo desafiado com a mesma dieta. Já para as aves não desafiadas do tratamento CN + 1,0kg do *Blend* de aditivos alimentares/ton de ração a medida da largura do vilo no jejuno foi maior ($p<0,05$) em comparação ao grupo desafiado com mesma dieta.

Para largura de cripta do jejuno, ao ser desdobrada a interação, observa-se que o grupo de aves não desafiado do tratamento CN + 1,0kg de *Blend* de aditivos/ton de ração apresentou maior ($p<0,05$) largura de cripta no Jejuno quando comparado ao CN. Ao ser desdobrada a interação para largura de cripta do jejuno, porém se analisando o grupo de aves submetido ao desafio experimental, as aves do tratamento CP apresentaram maior ($p<0,05$) resultado quando comparado àquelas do tratamento CN + 0,5kg de *Blend* de aditivos/tonelada de ração. Quando a comparação se dá apenas entre as aves do CP houve menor ($p<0,05$) medida de largura de cripta para as aves não desafiadas.

Na mensuração da área de absorção do jejuno também houve interação ($p<0,05$) entre a dieta e o desafio e, ao desdobrar a interação, foi observado que as aves desafiadas do CN e CP apresentaram menor ($p<0,05$) área de absorção em relação as aves não desafiadas experimentalmente.

Os resultados da morfometria da mucosa intestinal do íleo de frangos de corte, aos 19 dias de idade (Tabela 8) indicam que houve interação ($P<0,05$) para largura de vilo.

Ao desdobrar a interação (Tabela 9), pode se observar que as aves desafiadas do CN apresentaram maior ($p < 0,05$) largura de vilo em comparação ao grupo não desafiado.

Tabela 5 – Morfometria da mucosa intestinal do duodeno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com *Blend* de aditivos e/ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente

	Vilo, μm		Cripta, μm		Relação Vilo:Cripta	Área de absorção, μm^2
	Comprimento	Largura	Profundidade	Largura		
	Duodeno					
Dietas						
Controle Negativo (CN)	1196,46	123,71	113,07	61,23	10,63	17,93
Controle Positivo (CP)	1255,91	115,43	128,56	63,61	9,81	18,79
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	1284,94	117,47	120,02	57,68	10,92	19,75
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	1211,71	122,09	117,47	61,63	10,45	17,99
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	1237,98	124,01	121,44	60,86	10,37	18,56
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	1257,91	115,23	124,53	63,28	9,95	18,79
Desafio experimental						
Sem	1271,03	115,53 ^b	116,00 ^b	61,22	11,05 ^a	19,23 ^a
Com	1210,61	123,88 ^a	125,70 ^a	61,55	9,66 ^b	18,04 ^b
Análise de variância						
CV, %	13,40	9,05	15,71	12,38	13,93	15,31
Dietas	0,6911	0,0516	0,2734	0,3214	0,3326	0,5040
Desafio	0,0788	0,0003	0,0142	0,8369	<,0001	0,0454
Dietas x desafio	0,9557	0,2638	0,4537	0,8469	0,161	0,9760

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si.

Fonte: O autor (2021)

Tabela 6 - Morfometria da mucosa intestinal do jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente

	Vilo, μm		Cripta, μm		Relação Vilo:Cripta	Área de absorção, μm^2
	Comprimento	Largura	Profundidade	Largura		
	Jejuno					
Dietas						
Controle Negativo (CN)	544,47	93,23	101,87	44,17	5,41	11,44
Controle Positivo (CP)	527,85	93,51	107,45	48,59	4,98	10,49
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	518,27	93,67	100,47	46,37	5,18	10,85
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	555,37	93,82	96,40	44,23	5,71	11,43
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	541,83	95,85	106,83	47,74	5,10	10,71
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	539,42	96,49	103,68	45,34	5,24	11,01
Desafio experimental						
Sem	559,27 ^a	93,16	99,91 ^b	45,45	5,62 ^a	11,62 ^a
Com	516,58 ^b	95,77	105,66 ^a	46,70	4,93 ^b	10,35 ^b
Análise de variância						
CV, %	13,96	10,40	13,22	11,35	14,21	18,00
Dietas	0,804	0,9074	0,2025	0,0922	0,0778	0,6967
Desafio	0,007	0,1997	0,0415	0,2436	<,0001	0,0023
Dietas x desafio	0,3422	0,0230	0,5596	0,0087	0,0626	0,0555

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si.

Fonte: O autor (2021)

Tabela 7 - Desdobramento da interação entre dietas e desafio para largura do Vilo, largura da cripta e área de absorção do jejuno

	Controle negativo (CN)	Controle positivo (CP)	CP + Blend (1,0 kg/ton)	CN + Blend (0,5kg/ton)	CN + Blend (1,0kg/ton)	CN + Blend (1,5kg/ton)	Valor de P
Largura do vilo do jejuno							
Desafio							
Sem	89,93	87,68 ^b	90,52	90,63	99,54 ^a	100,49	0,0957
Com	86,54	99,16 ^a	96,81	107,24	92,16 ^b	92,49	0,322
Valor de P	0,3204	0,0055	0,2037	0,1621	0,0402	0,1392	
Área de absorção do jejuno							
Desafio							
Sem	12,78 ^a	11,85 ^a	11,28	12,25	10,06	11,51	0,2102
Com	10,10 ^b	9,13 ^b	10,42	10,60	11,36	10,50	0,2678
Valor de P	0,0121	0,0061	0,3882	0,1810	0,1700	0,3657	
Largura da cripta do jejuno							
Desafio							
Sem	41,98 ^B	44,19 ^{bAB}	47,58 ^{AB}	44,49 ^{AB}	49,85 ^A	44,57 ^{AB}	0,0280
Com	46,35 ^{AB}	52,99 ^{aA}	45,15 ^{AB}	43,96 ^B	45,62 ^{AB}	46,11 ^{AB}	0,0437
Valor de P	0,1385	0,0154	0,2944	0,7895	0,0962	0,6114	

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha diferem entre si. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si.

Fonte: O autor (2021)

Tabela 8 - Morfometria da mucosa intestinal do íleo de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente

	Vilo, μm		Cripta, μm		Relação Vilo:Cripta	Área de absorção, μm^2
	Comprimento	Largura	Profundidade	Largura		
Dietas						
Controle Negativo (CN)	423,14	107,77	99,28	47,83	4,32	8,14
Controle Positivo (CP)	414,83	105,44	100,79	49,39	4,14	7,88
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	405,30	108,12	94,27	47,96	4,17	7,76
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	400,91	107,33	100,00	47,51	4,03	7,68
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	420,25	107,04	94,98	48,03	4,53	8,01
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	430,48	108,02	93,19	48,48	4,67	8,14
Desafio experimental						
Sem	409,93	105,88	95,40	47,51	4,36	7,90
Com	421,71	108,73	98,77	48,89	4,26	7,97
Análise de variância						
CV, %	14,77	8,69	12,10	8,63	17,09	15,67
Dietas	0,7546	0,9681	0,2875	0,8453	0,1264	0,8562
Desafio	0,3499	0,1405	0,1636	0,1083	0,5179	0,7991
Dietas x desafio	0,5438	0,0259	0,3514	0,6812	0,786	0,1075

Fonte: O autor (2021)

Tabela 9 - Desdobramento da interação entre dietas e desafio para largura do vilo do íleo

	Controle negativo (CN)	Controle positivo (CP)	CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	Valor de P
Largura do vilo do íleo							
Desafio							
Sem	99,75 ^b	101,58	109,21	109,31	106,11	109,34	0,1559
Com	115,78 ^a	109,30	107,04	105,60	107,98	106,71	0,3255
Valor de P	0,0037	0,1404	0,5629	0,5585	0,6240	0,5887	

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

Fonte: O autor (2021)

A tabela 10 apresenta os resultados da contagem de células PCNA positivas presentes na mucosa do jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade. As células PCNA positivas são células que expressam antígenos durante a fase G1 tardia e durante a fase S do ciclo celular. Essa metodologia utiliza anticorpos monoclonais contra antígenos específicos de células proliferativas. É uma maneira de se avaliar a proliferação celular de forma precisa e sem administrar de qualquer substância ao animal (RABENHORST *et al.*, 1993).

De acordo com os resultados obtidos na avaliação deste parâmetro não houve efeito ($p < 0,05$) na contagem de células PCNA positivas no jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade independentemente do desafio entérico proposto e da dieta fornecida.

Tabela 10: Contagem de células PCNA positivas na mucosa do jejuno de frangos de corte aos 19 dias de idade, recebendo dietas suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente

	Células em mitose/mm ²
Dietas	
Controle Negativo (CN)	0,046
Controle Positivo (CP)	0,046
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	0,044
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	0,041
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	0,041
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	0,050
Desafio experimental	
Sem	0,044
Com	0,043
Análise de variância	
CV, %	32,38
Dietas	0,839
Desafio	0,940
Dietas x desafio	0,748

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: O autor (2021)

A tabela 11 apresenta os resultados da determinação da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do conteúdo cecal de frangos de corte aos 42 dias de idade. Houve efeito ($p < 0,05$) na concentração do ácido acético nas aves que foram submetidas ao desafio entérico independentemente da dieta fornecida. Aves desafiadas apresentaram aumento da concentração de ácido acético em comparação com as aves que não foram submetidas a proposta de desafio entérico.

Tabela 11 – Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (mmol/kg) no conteúdo cecal de frangos de corte aos 42 dias de idade, recebendo dietas suplementados com *Blend* de aditivos e ou AMD em frangos de corte desafiados ou não experimentalmente

	Acético	Propanóico	Isobutírico	Butírico	Isovalérico	Valérico
Dietas						
Controle Negativo (CN)	57,50	8,50	1,65	9,64	1,59	1,51
Controle Positivo (CP)	55,43	7,81	1,66	9,10	1,86	1,35
CP + <i>Blend</i> (1,0 kg/ton)	60,43	7,98	1,49	8,82	1,80	1,41
CN + <i>Blend</i> (0,5kg/ton)	55,57	9,79	1,67	8,84	1,75	1,48
CN + <i>Blend</i> (1,0kg/ton)	60,06	8,73	1,48	11,21	1,64	1,55
CN + <i>Blend</i> (1,5kg/ton)	55,70	9,05	1,87	9,94	1,86	1,47
Desafio experimental						
Sem	54,09 ^b	8,07	1,59	8,99	1,75	0,54
Com	59,91 ^a	9,18	1,72	9,99	1,75	0,42
Análise de variância						
CV, %	24,07	41,90	28,19	45,45	34,35	33,46
Dietas	0,839	0,657	0,194	0,686	0,745	0,897
Desafio	0,022	0,128	0,280	0,193	0,908	0,134
Dietas x desafio	0,413	0,256	0,180	0,562	0,681	0,271

Fonte: O autor (2021)

4.4 Discussão

O protocolo de desafio experimental aplicado entre os 14 dias de idade (oocistos vacinais de *Eimeria* spp) e 16 dias de idade (*E. coli* ATCC® 8739™) permitiu que, ao final de uma semana pós-desafio fossem observados impactos negativos no desempenho produtivo das aves (tabela 2).

Os parasitas do gênero *Eimeria* que acometem frangos de corte têm potencial de causar prejuízos financeiros superiores aos 3 milhões de dólares ao ano às empresas e produtores em razão de que causam danos intestinais, mal absorção de nutrientes e, conseqüentemente, queda de desempenho (Dalloul e Lillehoj, 2006). Os coccídeos são protozoários unicelulares e parasitas intracelulares obrigatórios e as manifestações clínicas da coccidiose aviária podem variar bastante passando por uma infecção intestinal não perceptível até a capacidade de acometer outros órgãos como os rins e fígado, podendo causar a morte da ave (Chapman, 2014).

Neste estudo, ao serem observadas as respostas zootécnicas das aves frente ao desafio entérico já na primeira semana após desafio se percebe que houve considerável dano à função intestinal ocasionada pelos agentes infecciosos inoculados tornando possível a avaliação.

A queda de desempenho das aves desafiadas nessa avaliação está de acordo com diferentes estudos publicados na literatura. Nos estudos de Shawkat *et al.* (2015) e Wilson *et al.* (2018) o desempenho das aves também foi negativamente afetado quando submetidas ao desafio entérico. No caso da avaliação realizada por Shawkat *et al.* (2015) foi observado que além do efeito negativo do desafio a dieta interferiu positivamente na recuperação das aves divergindo desta avaliação. Ao utilizarem levedura hidrolisada houve melhor recuperação do grupo desafiado.

Em outro estudo recente, Leung *et al.* (2019) também encontraram resultados zootécnicos inferiores para aves desafiadas com Eimerias. Estes pesquisadores, ao estudarem os efeitos do uso de um extrato de levedura rico em nucleotídeos para aves submetidas a desafio de coccidiose, identificaram redução de 4,3% no ganho de peso de aves desafiadas em relação àquelas não desafiadas. Além disso, encontraram efeito positivo para ganho de peso para as aves que receberam a suplementação com o aditivo avaliado em relação àquelas aves que não receberam o produto via dieta.

Em nossa avaliação, as aves desafiadas, quando comparadas àquelas que não foram desafiadas, apresentaram resultados inferiores para ganho de peso, consumo de

ração e pior conversão alimentar no período após a aplicação do protocolo de desafio entérico. Essas informações evidenciam a efetividade do protocolo de desafio entérico proposto. Com relação as dietas, nesse período de 15 a 21 dias de idade, não houve diferenças.

A associação de dietas equilibradas e balanceadas, ingredientes e aditivos alimentares de boa qualidade, boas práticas de manejo, ambiência e sanidade controlados são fatores que possibilitam rápida recuperação das aves de produção. Essa condição geral contextualiza o período pós desafio entérico proposto em nosso estudo, fato este que permitiu a pronta reconstituição da permeabilidade intestinal refletindo em recuperação das aves desafiadas em tempo hábil não apresentando diferença ($p > 0,05$) para grau de permeabilidade intestinal aos 19.

Algumas possíveis razões para que não tenham sido verificadas diferenças nos níveis séricos de FITC-d entre os tratamentos podem estar relacionadas ao tempo de medição pós-infecção. O TGI de frangos de corte é formado e atendido por grande percentual de células ligadas ao sistema imune. Por isso, a resposta a qualquer dano nesta região tende a ser bastante ágil. Respostas celulares primárias ocorrem em poucos minutos após o início de uma infecção com o intuito de se manter o equilíbrio fisiológico. Assim, o organismo das aves desafiadas provavelmente teve tempo hábil para efetuar reparos na mucosa intestinal que minimizaram a passagem do marcador à corrente sanguínea;

As eimerias em fases juvenis se multiplicam no interior de enterócitos desencadeando processo inflamatório local. Dependendo do grau de lesão e inflamação no tecido há o desencadeamento de resposta inflamatória que pode aumentar a pressão intercelular e intracelular dificultando, momentaneamente, a translocação do FITC-d da luz intestinal para a corrente sanguínea.

As análises da morfometria intestinal que foram realizadas nas amostras de mucosa intestinal colhidos aos 19 dias de idade indicam que o desafio experimental ($p < 0,05$) afetou os parâmetros morfométricos do intestino das aves desafiadas. Este efeito causado pelo desafio sobre a funcionalidade intestinal pode ser correlacionado a queda de desempenho produtivo apresentado por esse grupo de aves.

Segundo Maiorka (2004), a mucosa intestinal é composta por projeções microscópicas (vilos) que são constituídos por três tipos celulares: enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas. Dentro das vilosidades intestinais encontra-se tecido conjuntivo na lâmina própria, com vasos sanguíneos, que fazem a condução dos

nutrientes absorvidos pelos enterócitos. Em animais de produção, a altura das vilosidades se correlaciona de forma positiva com o ganho de peso corporal e absorção de nutrientes. As células caliciformes têm a função importante de produzir o muco que protege (através da mucina) a mucosa do intestino contra entrada de patógenos, não os possibilitando de se fixarem na parede do órgão e iniciarem um processo infeccioso. As células enteroendócrinas estimulam o pâncreas exócrino quando o alimento entra no intestino delgado (GUERRA, 2018; SOUZA, 2020).

Em situações de estresse (alta temperatura, redução de consumo de alimento, infecções e desafios entéricos) a altura das vilosidades pode ser reduzida no intestino, pois células lesadas precisam ser repostas, mas muitas vezes o tamanho do dano tecidual é considerável ao ponto de não permitir tempo suficiente de recuperação sem que haja alterações na morfometria intestinal. Nesses casos, há presença de enterócitos imaturos (com baixa capacidade absorptiva, bem como reduzida atividade das enzimas na bordadura em escova) comprometendo a absorção de nutrientes e, possivelmente, ocasionando efeito negativo sobre a saúde e homeostasia intestinal (GUERRA, 2018).

Processos de renovação (proliferação e diferenciação de células localizadas na cripta e ao longo da vilosidade) e perda celular (extrusão, que ocorre ao longo dos vilos) ocorrem constantemente no intestino e dão suporte ao desenvolvimento e manutenção da mucosa intestinal. (MAIORKA *et al.*, 2003; FIGUEIRA *et al.*, 2014). A sincronia entre renovação e perda celular (*turnover* celular) é que garante a manutenção do número de células e a da habilidade funcional do epitélio (UNI, 2006). Caso aconteça acréscimo na taxa de proliferação, com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, haverá o aumento na profundidade de cripta (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

As análises morfométricas indicaram que a estrutura e integridade intestinal foram afetadas refletindo na capacidade absorptiva das aves e, conseqüentemente, afetando o crescimento e desempenho zootécnico.

Já na tabela 8 (íleo) os resultados indicam que a área de absorção não diferiu ($p>0,05$) entre os diferentes tratamentos. Um possível aspecto que pode ser considerado em relação a esse resultado, é o fato do aditivo alimentar testado ser composto por ácido orgânico encapsulado. Produtos compostos por ácidos orgânicos com o propósito de agir no terço distal do intestino idealmente devem ser revestidos por micelas (óleo) de boa qualidade. Essa micela que envolve o ácido orgânico o protegerá da variação e da ação do pH intestinal passando ela a ser dissolvida após a ação das enzimas pancreáticas que têm a capacidade de dissolver gorduras. Após a dissolução da micela protetora ocorre a

liberação do ácido orgânico e este será dissociado ao entrar em contato com pKa (constante de dissociação) específico passando a ter efeito contra alguns microrganismos potencialmente patogênicos e modulando a microbiota intestinal. Este efeito pode ter ocorrido neste caso reduzindo o desafio neste local em comparação com as demais regiões e não comprometendo tanto o íleo e suas funções (MEUNIER *et al.*, 2006; SONG *et al.*, 2017).

O comprometimento das respostas nos parâmetros da performance produtiva e da capacidade absorptiva intestinal apresentado pelas aves desafiadas neste experimento podem estar embasados nos estudos de Lillehoj (1998) e Yun *et al.* (2000). Os estudos desenvolvidos por esses pesquisadores indicam que o maior pico de resposta imunológica das aves aos parasitas (Eimerias) se dá entre 14 e 21 dias após o desafio e, segundo Williams & Andrews (2001), as lesões intestinais causadas pelas eimerias após infecção ou vacinação podem ocorrer entre 5 e 23 dias, resultando em descamação, inflamação, atraso no crescimento e pior conversão alimentar (RÉPÉRANT *et al.* 2012).

Além disso, é sabido que as vacinas comerciais contra coccidiose são compostas por oocistos atenuados e em baixas doses sendo necessário o correto acondicionamento, preparo e quantificação da dose infectante definida no protocolo de estudo para que haja o efeito de indução de desafio entérico e consequentes efeitos sobre o desempenho de frangos de corte simulando a realidade de campo.

Após a infecção por coccidiose, outro aspecto importante neste protocolo de estudo que pode ter afetado a qualidade intestinal e, conseqüentemente, o desempenho das aves desafiadas foi a inoculação de cepa de *E. coli* no 16º dia de idade dos frangos de corte.

Muitos pesquisadores consideram que infecções intestinais por *E. coli* não são comuns sendo mais relatadas as infecções do trato respiratório ou através de lesões de celulite (processo infeccioso agudo do tecido subcutâneo). Caso a *E. coli* tenha acesso à corrente sanguínea, em virtude desses processos infecciosos, é possível que haja o desenvolvimento de quadro de septicemia pelo deslocamento e chegada da bactéria em outros órgãos (CHRISTENSEN *et al.*, 2006; MOULIN-SCHOULEUR *et al.*, 2007). No entanto, Nolan *et al.* (2020) citam que o entendimento anterior era de que realmente a *E. coli* era um patógeno secundário importante no intestino, mas que necessitava de outros fatores predisponentes como infecções virais, bacterianas, parasitárias, estresse, amônia, entre outros, mas cepas APEC também podem ser importantes patógenos primários.

As lesões teciduais no TGI causadas, por exemplo, em quadros de infecções entéricas podem se apresentar em diferentes escalas. Geralmente quanto maior for a lesão tecidual, há maior probabilidade de comprometimento das funções intestinais bem como maior pode ser o dano causado ao desenvolvimento do animal por perda de função e/ou redução da capacidade física de proteção feita pela parede intestinal.

Conforme mencionado por Svanes *et al.*, (1982), a reconstituição da mucosa intestinal é um processo que deve reestabelecer brevemente a continuidade das células epiteliais após uma injúria onde as células epiteliais viáveis migram de áreas adjacentes logo abaixo da área lesada. Este processo de reconstituição tem rápido início após a lesão (5 a 30 minutos), sendo dependente da secreção de muco sobre a área lesionada. O epitélio remanescente fica hiperplásico apresentando maior altura do vilosidade e profundidade da cripta (MAIORKA *et al.*, 2008).

Tradicionalmente, a avaliação do intestino é realizada através de cortes histológicos e parâmetros morfométricos. Porém, a contagem de células PCNA positivas, técnica que permite a quantificação da capacidade de crescimento tecidual através da cinética da proliferação celular (Bravo *et al.*, 1987), tem se mostrado uma ferramenta de estudo eficiente que pode auxiliar no complemento das análises técnicas sem a necessidade de se realizar a administração de qualquer substância aos animais (Rabenhorst *et al.*, 1993).

De acordo com avaliação realizada por Uni *et al.* (1998), o método de imunocoloração feita pelo PCNA indica a presença de células em proliferação nas criptas (cerca 55%) e ao longo das vilosidades (cerca de 40%) da mucosa gastrintestinal de frangos de corte, e inclusive, alguma atividade na porção superior dos vilos. Estes dados sugerem que a proliferação intestinal de células epiteliais não está restrita às criptas e que o crescimento e reposição do epitélio pode ser devido em parte à atividade mitótica de células especializadas (MARCHINI, 2005). Segundo Garcia *et al.*, (2007) o aproveitamento de nutrientes se alinha com a atividade proliferativa dos enterócitos, aumentando a renovação e manutenção de tecidos saudáveis. Também, o aumento da expressão do gene PCNA é uma indicação de descamação do epitélio intestinal, uma vez que o PCNA desempenha um papel vital na reparação celular e reparo de DNA (KIM *et al.*, 2017).

De acordo com os resultados deste estudo, aos 19 dias de idade das aves não houve efeito ($p > 0,05$) para a contagem de células PCNA positivas nas análises dos tratamentos avaliados. Entretanto, Gottardo *et al.* (2016) ao avaliarem os efeitos do uso de aminoácidos

em frangos que também foram desafiados com *Eimeria* e *E. coli* observaram interação significativa para a contagem de células PCNA-positivas entre dietas e o desafio experimental. Aos 21 dias de idade, uma semana após o desafio proposto, o grupo de aves desafiadas apresentou maior contagem de células PCNA-positivas.

Apesar de não ter sido encontrado neste estudo efeito significativo na contagem de células PCNA positivas aos 19 dias de idade no jejuno de frangos de corte os resultados complementares indicam que houve comprometimento da função intestinal. A menor medida de área de absorção intestinal ($p < 0,05$) e, conseqüentemente, piores resultados zootécnicos ($p < 0,05$) para aves desafiadas são indicativos disto.

Citações de literatura mencionam que o uso de determinados aditivos alimentares (ácidos orgânicos, aminoácidos, prebióticos, probióticos, minerais orgânicos, entre outros) favorecem a melhor saúde intestinal geral por promoverem melhor integridade da barreira física e melhor regulação do bioma intestinal, além de melhor desenvolvimento, maturação e reconstituição do epitélio celular (BORTOLUZZI *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2015; MENCONI *et al.*, 2013; MWANGI *et al.*, 2017; ZHANG & GUO, 2009).

A suplementação com o *blend* de aditivos alimentares utilizada neste estudo pode auxiliar no melhor desenvolvimento e/ou recuperação de dano tecidual no intestino de animais desafiados visto que faz associação com ácido orgânico, prebiótico na forma de frações ricas em manose e proteinato de zinco (orgânico), substâncias as quais atuam diretamente sobre a saúde intestinal.

Os resultados encontrados por Wu *et al.* (2019) corroboram com o presente estudo. Estes pesquisadores também não identificaram, em frangos de corte aos 26 dias de idade, variação significativa na contagem de células PCNA positivas no jejuno de aves submetidas ou não a desafio de enterite necrótica. No entanto, o grupo de aves ao qual foi administrado probiótico contendo *E. faecium* apresentou significativa ($p < 0,05$) contagem superior de células PCNA em comparação ao grupo que não recebeu o probiótico. Já na avaliação de Leung *et al.* (2019) os resultados mostram que o desafio causado pelas *Eimerias* aumentou a expressão de PCNA significativamente.

Outras situações de estresse as quais as aves podem ser submetidas também podem apresentar alteração da estrutura celular intestinal e, conseqüentemente, alteração na contagem de células PCNA. O estudo realizado por Nanto-Hara *et al.* (2020), ao avaliarem frangos de corte submetidos a estresse por calor, identificou que houve queda de desempenho, aumento da concentração de endotoxinas e a contagem de células PCNA positivas na região duodenal dos frangos que permaneceram entre 24 e 48 horas sob altas

temperaturas. Após 72 horas de estresse por calor, segundo avaliação de Abdelqader *et al.* (2016), não houve redução da atividade de proliferação (PCNA) no duodeno indicando que pode haver uma certa adaptação da ave ao desafio por temperatura.

Com relação a quantificação dos AGCC realizada nesta avaliação, as aves do grupo que foi desafiado apresentaram maior concentração de ácido acético em relação ao grupo de aves não desafiado aos 42 dias de idade (tabela 11).

Em casos de desafios entéricos existe alteração da composição da microbiota intestinal e, conseqüentemente, a homeostasia do TGI é afetada. Dependendo do grau de desafio enfrentado pelos animais, o retorno à condição normal pode levar mais tempo interferindo significativamente nas populações bacterianas. Determinados grupos de bactérias têm a capacidade de produzir metabólitos, dentre eles alguns ácidos orgânicos de cadeia curta e a ocorrência deste fato evidencia a tentativa do organismo, através da flora microbiana, em criar mecanismos para reestabelecer a condição normal. Alguns ácidos orgânicos, dentre eles o acético, acabam criando condições no microambiente intestinal que inibem agentes patogênicos favorecendo a recuperação do tecido lesado em enterites.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são metabólitos gerados pela fermentação bacteriana anaeróbica das fibras dietéticas e proteínas no intestino grosso. A comunidade que compõe o microbioma intestinal possui determinados membros que, associados à mucosa, são de extrema importância para a manutenção de estado saudável do TGI e os metabólitos por eles produzidos são compostos principalmente de acetato (2C), propionato (3C) e butirato (4C) (RÍOS-COVIÁN *et al.*, 2016). O acetato é o AGCC mais abundante no intestino produzido a partir da acetil-CoA derivada da glicólise e pode ser também transformado em butirato pela enzima butiril-CoA:acetil-CoA transferase (VENEGAS *et al.*, 2019).

As principais fontes de fibras não digeríveis e que se configuram nos principais substratos para fermentação bacteriana e produção de AGCC são amido resistente, inulina, farelo de aveia, farelo de trigo, celulose e pectina. Em particular, o amido resistente é uma fonte importante para a produção de butirato (VENEGAS *et al.*, 2019). Bacteroidetes (gram-negativos) e Firmicutes (gram-positivos) são os filos mais abundantes no intestino, com membros dos Bacteroidetes produzindo principalmente acetato e propionato, enquanto Firmicutes produzem principalmente butirato (CORRIGAN *et al.*, 2017; VENEGAS *et al.*, 2019).

Muitos estudos demonstraram que os AGCC desempenham um papel significativo na regulação da saúde intestinal nas aves e outras espécies, inclusive para seres humanos. Ao serem absorvidos, principalmente no intestino, os AGCC são utilizados pelos enterócitos como importante substrato para a produção de energia que estimula a proliferação, diferenciação e maturação destas células intestinais podendo também inibir a invasão e colonização de patógenos através da produção de mucina e redução do pH intestinal (LIU *et al.*, 2021; VENEGAS *et al.*, 2019).

Diversas situações atreladas ao processo de criação de frangos podem alterar a configuração do microbioma intestinal. Desafios sanitários, como a coccidiose aviária (STANLEY *et al.*, 2014) e/ou enterite necrótica, podem provocar alterações na composição da microbiota intestinal e no perfil de produção dos AGCC nas diferentes regiões do intestino e em diferentes momentos após infecção (BORTOLLUZI *et al.*, 2018).

Os estudos de Corrigan *et al.*, (2017) e Bortoluzzi *et al.*, (2018) avaliaram, respectivamente, os efeitos do uso de frações ricas de manose (*manose rich fraction* - MRF) e butirato de sódio associado ou não a óleo essencial (BS/BSOE) com aves submetidas ou não a desafio entérico. Além disso, foram avaliados os efeitos sobre a composição e variação da microbiota intestinal ao longo dos experimentos. Ambos os estudos identificaram que a população de bacteroidetes e firmicutes variou inversamente. Aves suplementadas com os aditivos alimentares MRF e BS incrementaram a concentração de bacteroidetes e reduziram a população intestinal de firmicutes. Essa modulação bacteriana afetou a produção de AGCC nos estudos bem como a maior quantidade de bacteroidetes/menor quantidade de firmicutes esteve ligada a melhores respostas de desempenho no estudo de Corrigan *et al.* (2017).

Buzim (2021), ao quantificar a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do conteúdo cecal de frangos de corte aos 22 dias de idade que foram submetidos ou não a desafio entérico, identificou que houve efeito do desafio para a concentração dos AGCC avaliados. As aves desafiadas apresentaram maior ($p < 0,05$) quantidade de ácido acético, propanóico, isobutírico e butírico.

Tanto neste quanto nos demais estudos mencionados, a maior quantidade de AGCC no grupo desafiado indica que o desafio entérico provocou alterações da microbiota intestinal gerando perturbação do equilíbrio entre os microrganismos. Este aumento da quantidade dos AGCC no grupo desafiado pode indicar que o organismo

animal está buscando reestabelecer a homeostasia ao modificar o meio ambiente para tentar eliminar patógenos.

4.5 Conclusões

O modelo de desafio experimental proposto neste estudo foi capaz de induzir a um quadro de enterite indicando que este modelo pode servir como base experimental para a avaliação de aditivos alimentares voltados para a saúde intestinal de frangos de corte.

O desafio entérico interferiu negativamente no desempenho zootécnico e na área de absorção intestinal dos animais desafiados na semana imediatamente após a aplicação do protocolo experimental. Além disso, houve perturbação da homeostasia intestinal medida também pela quantificação de AGCC.

A suplementação dietética de frangos de corte com o *Blend* de aditivos alimentares utilizado nesta avaliação não alterou os níveis séricos de FITC-d e a contagem de células PCNA-positivas na mucosa do jejuno de frangos corte aos 19 dias de idade submetidos ou não ao desafio entérico. Entretanto, nas condições deste estudo, o *Blend* alimentar apresentou respostas que permitem a sua indicação para uso em associação ou mesmo em substituição total do AMD, pois as respostas foram similares de acordo com a variável analisada e a dose utilizada do aditivo alimentar.

4.6 Referências

ABDELGADER A., Rahman, A. and Fataftah A., 2016. Effect of dietary butyric acid on performance, intestinal morphology, microflora composition and intestinal recovery of heat-stressed broilers. **Livestock Science**, 183: 78-83.

AHSAN, U., Cengiz, O., Raza, I., Kuter, E., Chacher, M. F. A., Iqbal, Z., et al. (2016). Sodium butyrate in chicken's nutrition: the dynamics of performance, gut microbiota, gut morphology, and immunity. **World's Poultry Science**. J. 72, 265–275. doi: 10.1017/S00439339160 00210

BLAKE, D.P., Knox, J., Dehaeck, B. *et al.* Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Vet Res* 51, 115 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00837-2>

BORTOLUZZI, C.; Pedroso, A.A.; Mallo, J.J.; Puyalto, M.; Kim, W.K.; Applegate, T. J. 2017. Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. **Poult. Sci.**96:3981–3993.

BORTOLUZZI, C., Rothrock, M. J., Vieira, B.S., Mallo, J. J., Puyalto, M., Hofacre, C., Applegate, T. J. Supplementation of protected sodium butyrate alone or in combination with essential oils modulated the cecal microbiota of broiler chickens challenged with *Coccidia* and *Clostridium perfringens*. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Vol. 2, 2018. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsufs.2018.00072> DOI=10.3389/fsufs.2018.00072, ISSN=2571-581X

BORTOLUZZI, C.; VIEIRA, B. S.; HOFACRE, C.; APPLGATE, T. J. Effect of different challenge models to induce necrotic enteritis on the growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens, **Poultry Science**, Volume 98, Issue 7, 2019, Pages 2800-2812, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pez084>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119302093>)

BOZKURT, M., küçükyılmaz, K., Çatlı, A.U., Çınar, M.. (2008). The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. **South African Journal of Animal Science**. 39. 197-205. 10.4314/sajas. v39i3.49152.

BRAVO, R., Frank, R., Blundell, P. A., Macdonald-Bravo, H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. **Nature**, 1987; 326:515-7.

BUZIM, R. Efeito da adição de butirato de sódio encapsulado e arginina em dietas para frangos de corte submetidos a um modelo de desafio entérico e térmico. Dissertação (Mestrado), Universidade do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, p.73, 2021.

CARDINAL, K. M., Kipper, M., Andretta, I., Ribeiro, A. M. L. Withdrawal of antibiotic growth promoters from broiler diets: performance indexes and economic impact. **Poultry Science**, Volume 98, Issue 12, 2019, Pages 6659-6667, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pez536>.

CHAPMAN, H. 2014. Milestones in avian coccidiosis research: A review. *Poult. Sci.* 93:501–511.

CHISTENSEN, J.P., Chadfield, M.S., Olsen, J.E., Bisgaard, M. The gastrointestinal tract as a port of entry for bacterial infections in poultry in: PERRY, G.C. Avian Gut Function in Health and Disease, Cab International, Wallingford, 2006. v. 28, cap. 16, p. 244-258

CORRIGAN, A; FAY, B. J.; CORCIONIVOSCHI, N.; MURPHY, R. A. Effect of yeast mannan-rich fractions on reducing *Campylobacter* colonization in broiler chickens, **Journal of Applied Poultry Research**, Volume 26, Issue 3, 2017, Pages 350-357, ISSN 10566171, <https://doi.org/10.3382/japr/pfx002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105661711930114X>)

DALLOUL, R. A. e H. S. Lillehoj. 2006. Poultry coccidiosis: Recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert Rev. Vaccines** 5:143–163

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453-463, 2002.

FIGUEIRA, S. V., Mota, B. P., Leonídio, A. R. A., Nascimento, G. M., & Andrade, M. A. (2014). Microbiota intestinal das aves de produção. *Enciclopédia Biosfera*, 10(18), 2181-2208.

GARCÍA, V., Catalá-Gregori, P., Hernández, F., Megías, M.D. and Madrid, J. (2007) **Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers**. *The Journal of Applied Poultry Research*, 16, 555-562. doi:10.3382/japr.2006-00116

GOTTARDO, E. T., Prokoski, K., Horn, D., Viott, A. D., Santos, T. C., Fernandes, J. I. M. Regeneration of the intestinal mucosa in *Eimeria* and *E. Coli* challenged broilers supplemented with amino acids. **Poultry Science**, Volume 95, Issue 5, 2016, Pages 1056-1065, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pev356>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003257911931819X>)

GUERRA, R. R. (2018). **Morfofisiologia do sistema digestório de não ruminantes**. In: Costa, F. G. P., & Silva, J. H. V. *Produção de não ruminantes*. (pp. 225-246). João Pessoa: Editora UFPB.

GUILLOTEAU, P.; SAVARY, G.; JAQUELIN-PEYRAULT, Y., et al. Dietary sodium butyrate supplementation increases digestibility and pancreatic secretion in young milk-fed calves. **Journal Dairy Science**. 93: 5842-5850, 2010.

KIM, E., Leung, H., Akhtar, N., Li, J., Barta, J., Wang, Y., Yang, C. and Kiarie, E. 2017. Growth performance and gastrointestinal responses of broiler chickens fed corn-soybean meal diet without or with exogenous epidermal growth factor upon challenge with *Eimeria*. **Poult. Sci.** 96:3676–3686.

LEANDRO, N. S. M.; Oliveira, A. S. C. De; Café, M. B.; Gonzales, E.; Stringhini, J. H.; Andrade, M. A. **Efeito do prebiótico e do ácido butírico in ovo sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes da ração e biometria do trato gastrintestinal de pintos submetidos ao jejum**. *Ciência Animal Brasileira*, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 806–816, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/5088> . Acesso em: 19 nov. 2021.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. A.; COX, M. M. **Principles of Biochemistry**. Worth Publishers, INC. New York. United States. 1993.

LEUNG H., Yitbarek, A., Snyder, R., Patterson, R., Barta, J. R., Karrow, N., Kiarie, E. (2019). Responses of broiler chickens to *Eimeria* challenge when fed a nucleotide-rich yeast extract. *Poultry science*, 98(4), 1622–1633. <https://doi.org/10.3382/ps/pey533>

LI, C., Guo, S. Gao, J., Guo, Y., Du, E., Lv, Z., and Zhang, B. 2015. Maternal high-zinc diet attenuates intestinal inflammation by reducing DNA methylation and elevating H3K9 acetylation in the A20 promoter of offspring chicks. *J. Nutr. Biochem.* 26:173– 183.

LILLEHOJ, H.S. 1998. **Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis**. *Int. J. Parasitol.* 28:1071-1081.

LIU, L., Li, Q., Yang, Y., Guo, A. **Biological Function of Short-Chain Fatty Acids and Its Regulation on Intestinal Health of Poultry**. *Front Vet Sci.* 2021;8:736739. Published 2021 Oct 18. doi:10.3389/fvets.2021.736739

MACDONALD, R. S. 2000. The role of zinc in growth and cell proliferation. *J. Nutr.* 130:1500S–1508S.

MAIORKA, A., Santin, E., Dahlke, F., Boleli, I. C., Furlan, R. L., & Macari, M. (2003). Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *The Journal of Applied Poultry Research*, 12(4), 483-492.

MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A., et al. Emprego de uma mistura de ácido fumárico, láctico, cítrico e ascóbio em dietas iniciais de frangos de corte. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. 2008. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. Pág. 113-120. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. 2^a ed. **Jaboticabal**: FUNEP/UNESP.

MENCONI, A., G. Kallapura, X. Hernandez-Velasco, J. Latorre, M. Morgan, N. R. Pumford, S. Layton, T. Urbano, M. Caseres, C. Pixley, J. Barton, B. M. Hargis and G. Tellez. 2013. **Effect of Glutamine supplementation associated with probiotics on *Salmonella Typhimurium* and nitric oxide or glutamine with perinatal supplement on growth performance and intestinal morphology in broiler chickens**. *Clin. Micr.* 2:120. doi:10.4172/2327-5073.1000120.

MONTEIRO, D.P. **Ácidos orgânicos em dietas de leitões**. *Porkworld*, v.4, n.21, p. 48-51, 2004.

MOULIN-SCHOULER, M., Répérant, M., Laurent, S., Bree, A., Mignon-Grasteau, S., Germon, P., Rasschaert, D., Schouler, C. **Extra-Intestinal pathogenic *Escherichia coli* of avian and human origin: link between phylogenetic relationships and common virulence patterns**, *Journal Clinical Microbiology*. v. 45, p.3366-3376, 2007

MWANGI, S., J. TIMMONS, T. Ao, M. PAUL, L. Macalintal, A. PESCATORA A. Cantor, M. Ford, and K. A. Dawson. 2017. Effect of zinc imprinting and replacing

inorganic zinc with organic zinc on early performance of broiler chicks. **Poult. Sci.** 96:861–868.

NANTO-HARA, F., Kikusato, M., Ohwada, S., & Toyomizu, M. (2020). Heat Stress Directly Affects Intestinal Integrity in Broiler Chickens. **The journal of poultry science**, 57(4), 284–290. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0190004>

NOLAN, L.K., Vaillancourt, J.-P., Barbieri, N.L., Logue, C.M. Colibacillosis. **Diseases of Poultry**, 14. Ed., p. 770-830, 2020.

OLIVEIRA, D.R.M.S. & NÄÄS, I.A. Issues of sustainability on the Brazilian broiler meaproduction chain. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ADVANCES IN PRODUCTION MANAGEMENT SYSTEMS, 2012, Rhodes. **Anais. Competitive Manufacturing for Innovative Products and Services: proceedings**, Greece: Internacional Federation for Information Processing, 2012.

PICKLER, L. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de 10 corte desafiados com *Salmonella enteritidis* e Minnesota e tratados com ácidos 11 orgânicos. **Revista Veterinária Brasileira**, v.32, n.1, p.27-36, 2012.

PRASAD, A. S., Bao, B., Beck, F. W. and Sarkar, F. H. 2011. Zinc-suppressed inflammatory cytokines by induction of A20-mediated inhibition of nuclear factor-kappaB. **Nutrition**. 27:816–823.

RABENHORST, S. H., R. C. Burini, and F. C. L. Schmitt. 1993. Marcadores da proliferação celular. *Rev. Bras. Pat. Clin.* 29:24-29.

RÉPÉRANT, J.-M., Dardi M., Pagès M. & Thomas-Hénaff M. 2012. Pathogenicity of *Eimeria praecox* alone or associated with *Eimeria acervulina* in experimentally infected broiler chickens. *Vet. Parasitol.* 187:333-336.

RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

RÍOS-CÓVIAN, D., Ruas-Madiedo, P., Abelardo, M., Gueimonde, M., Reyes-Gavilán, C. G., Salazar, N. (2016). **Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health**. *Front Microbiol* 7, 185. doi: 10.3389/fmicb.2016.00185

RODRIGUEZ-PALENZUELA, P. **Los ácidos orgânicos como agentes antimicrobianos**. In: XVI CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA: Avances in Nutrición y Alimentación Animal, 16., 2000, Barcelona. Proceedings... Barcelona: 2000. p.155-167.

SANTOS, N.G. Suplementação de prebióticos (Actigen® e Viligen™) em dietas de frango de corte de 1 a 21 dias de idade. 2020. **Monografia** (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 31p.

SHAO, Y., Lei, Z., Yuan, J., Yang, Y., Guo, Y. and Zhang, B.. 2014. Effect of zinc on growth performance, gut morphometry, and cecal microbial community in broilers challenged with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. **Journal of Microbiology**. 52:1002– 1011.

SHAWKAT, A. M.; Shu-Biao, W.; Mingan, C.; Rebecca, F.; Robert, A.S. Use of yeast cell wall extract as a tool to reduce the impact of necrotic enteritis in broilers, **Poultry Science**, Volume 94, Issue 5, 2015, Pages 898-905, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pev035>.

SHIRLEY, M.W., Smith, A.L., Tomley, F.M. (2005) **The biology of avian Eimeria with an emphasis on their control by vaccination**. *Adv Parasitol* 60:285–330

SONG, B.; Li, H.X.; Wu, Y.Y.; Zhen, W.R.; Wang, Z.; Xia, Z.F.; Guo, Y.M. Effect of microencapsulated sodium butyrate dietary supplementation on growth performance and intestinal barrier function of broiler chickens infected with necrotic enteritis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p. 6-15, 2017.

SOUZA, C.S., Vieitis, F.M., Justino, L.R., Lima, M.F., Chaves, A.S., Cardos, V.S., Sousa, F.D.R., Costa, T. F., Minafra, C.S., Lima, C.A.R. Importância da saúde intestinal em frangos de corte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, e86932475, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i3.2475>

STANLEY, D., Hughes, R. J., and Moore, R. J. (2014). **Microbiota of the Chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity, and disease**. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 4301–4310. doi: 10.1007/s00253-014-5646-2

SVANES, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K., *et al.* 1982. **Restitution of the surface epithelium of the in vitro frog gastric mucosa after damage with hyperosmolar sodium chloride**. *Gastroenterology*. 82:1409-1426

TANG, K. L., N. P., Caffrey, D. B., Nóbrega, S. C., Cork, P. E., Ronksley, H. W., Barkema, A. J., Polachek, H., Ganshorn, N. Sharma, and J. D. Kellner. 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Planet. Health**. 1:316–327.

UNI Z., R. Platin, and D. Sklan. 1998. **Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus**. *J. Comp. Phys.* 168:241-7.

UNI Z. 2006. Early development of small intestinal function. In: Poultry Science Symposium Series. **Avian Gut Function in Health and Disease**. Washington DC, USA. 28:29-4

VALE, M.M., Menten, J.F.M., Morais, S.C.D., Brainer, M.M.A. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler. **Scientia Agricola**, v. 61, p. 371-375, 2004.

VENEGAS, D.P., De La Fuente, M.K., Landskron, G., González, M.J., Quera, R., Dijkstra, G., Harmsen, H.J.M., Faber, K.N., Hermoso, M.A. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for

Inflammatory Bowel Diseases. Front. in Immun. V. 10 (2019) p. 277
Doi:[10.3389/fimmu.2019.00277](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00277) ISSN 1664-3224>

WILLIAMS, R.B. & Andrews S.J. 2001. **The origins and biological significance of the coccidial lesions that occur in chickens vaccinated with a live attenuated anticoccidial vaccine.** Avian Pathol. 30:215-220.

WILSON, K. M.; CHASSER, K.M.; DUFF, A.F.; BRIGGS, W.N.; LATORRE, J.D.; BARTA, J.R.; BIELKE, L.R. 2018. Comparison of multiple methods for inductions of necrotic enteritis in broilers. I. J. Appl. **Poult. Res.** 0:1–13

WU, Y., Zhen, W., Geng, Y. *et al.* Pretreatment with probiotic *Enterococcus faecium* NCIMB 11181 ameliorates necrotic enteritis-induced intestinal barrier injury in broiler chickens. *Sci Rep* 9, 10256 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46578-x>

YUN, C.H., Lillehoj H.S. & Lillehoj E.P. 2000. **Intestinal immune responses to coccidiosis.** Dev. Comp. Immunol. 24:303-324.

ZHANG, B., and Y. Guo. 2009. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein1 (ZO-1) expression in weaning piglets. **British Journal Nutrition.** 102:687– 693.

ZHANG, G., Zhao, J. B., Dong, W. X., Song, X. M., Lin, G., Li, D. F., Zhang, S. Yeast-derived mannan-rich fraction as an alternative for zinc oxide to alleviate diarrhea incidence and improve growth performance in weaned pigs, **Animal Feed Science and Technology**, Volume 281, 2021, 115111, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115111>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840121002972>)