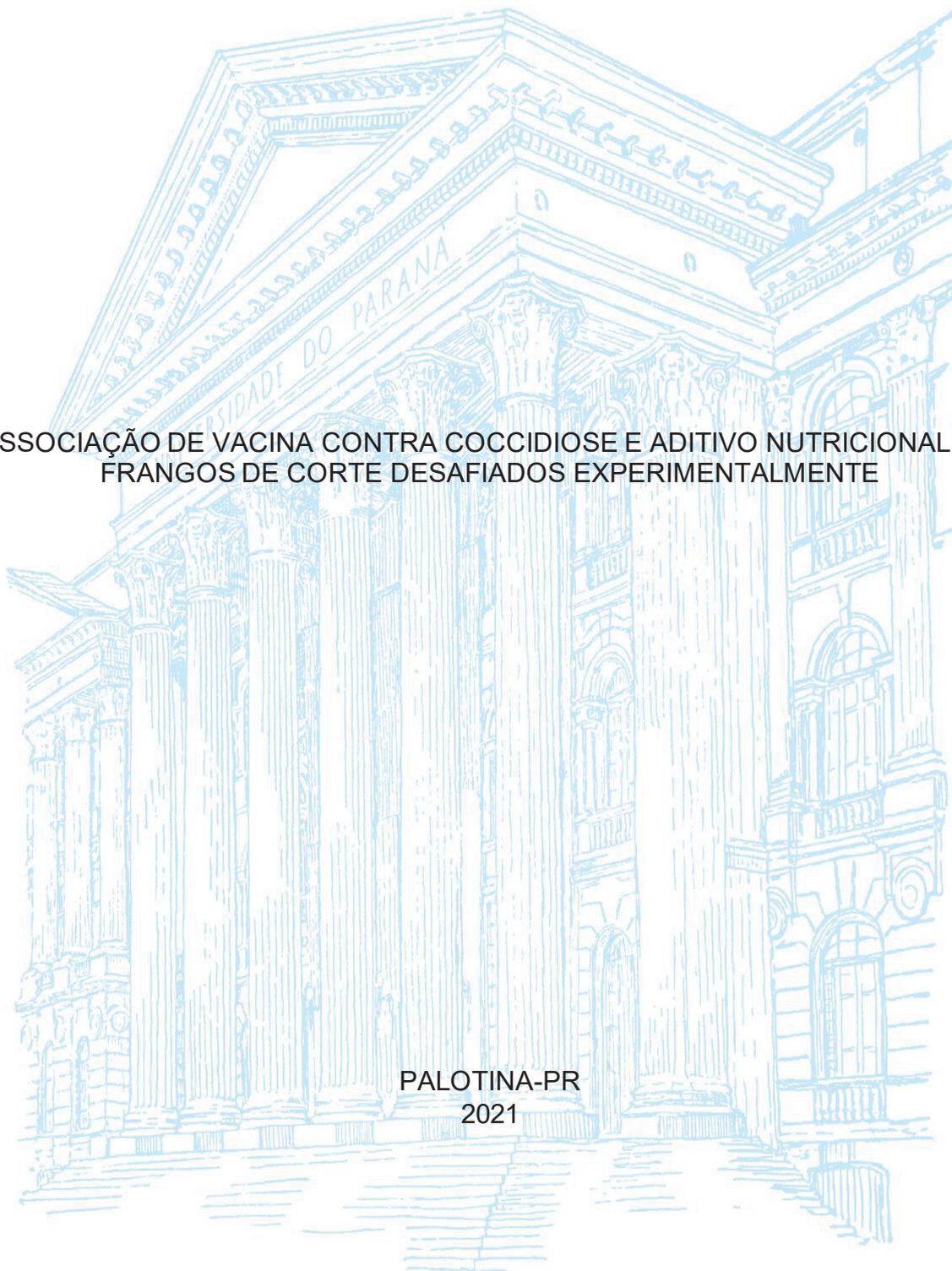


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA CEREDA DE OLIVEIRA

ASSOCIAÇÃO DE VACINA CONTRA COCCIDIOSE E ADITIVO NUTRICIONAL EM
FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE

PALOTINA-PR
2021



BRUNA CEREDA DE OLIVEIRA

ASSOCIAÇÃO DE VACINA CONTRA COCCIDIOSE E ADITIVO NUTRICIONAL EM
FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração em Produção Animal, linha de pesquisa em Nutrição e Produção Avícola, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Jovanir Inês Müller Fernandes

PALOTINA
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

O48 Oliveira, Bruna Cereda de
Associação de vacina contra coccidiose e aditivo nutricional em frangos de corte desafiados experimentalmente / Bruna Cereda de Oliveira – Palotina, 2021.
96f.

Orientadora: Jovanir Inês Müller Fernandes
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Controle coccidiose. 2. Vacinas atenuadas. 3. Aditivo nutricional. 4. Saúde intestinal. 5. Frango de corte. I. Fernandes, Jovanir Inês Müller. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.6



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **BRUNA CEREDA DE OLIVEIRA** intitulada: **ASSOCIAÇÃO DE VACINA CONTRA COCCIDIOSE E ADITIVO NUTRICIONAL EM FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE**, sob orientação da Profa. Dra. JOVANIR INÉS MÜLLER FERNANDES, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 30 de Julho de 2021.

Assinatura Eletrônica

09/08/2021 21:05:00.0

JOVANIR INÉS MÜLLER FERNANDES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

03/08/2021 15:56:29.0

ANTONIO CARLOS PEDROSO

Assinatura Eletrônica

03/08/2021 15:17:55.0

LAURA ADRIANE DE MORAES PINTO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

R. Pioneiro, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8529 - E-mail: ppgca.ufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 104484

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.pppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 104484

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Bruna Cereda de Oliveira, é graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná – UFPR, setor Palotina, graduação efetivada no ano 2014, onde foi integrante do grupo de pesquisa no laboratório de experimentação avícola.

Em junho de 2014 foi contratada pela empresa COPACOL– Cooperativa Agroindustrial Consolat, como médica veterinária de matrizes de frangos de corte, onde trabalhou por três anos.

Em julho de 2017, foi contratada pela multinacional Hipra Saúde Animal, como assistente técnica comercial no estado do Paraná e desde setembro de 2021, atua como coordenadora do projeto de coccidiose no Brasil.

Ingressou no Mestrado em Ciência Animal, no programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná – Palotina, em abril de 2019.

AGRADECIMENTOS

À Deus eu agradeço, pois ele sempre está ao meu lado, me abençoando e orientando para seguir o melhor caminho.

Aos meus pais, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com fé, esperança e honestidade. Roseli e Lorival, obrigada por iluminarem meu caminho com amor e afeto para que eu trilhasse sem medo os degraus da escada da vida. Amo muito vocês.

À Eloisa, por me apoiar, acreditar em mim e ficar feliz com minhas vitórias. Desejo um futuro prospero e de muito sucesso para você minha querida irmã.

Ao meu amor Bruno por me incentivar, acolher e estar sempre ao meu lado em todas as horas, desde as mais alegres até as mais difíceis. Ter o seu amor e apoio é essencial para minha felicidade. Obrigado, amor, por me fazer melhor! Saiba que eu te amo demais e quero ter você sempre comigo.

À minha querida professora, orientadora, Jovanir Inês Muller Fernandes, pelos conselhos e orientações, tanto da vida profissional, quanto da vida pessoal, me recordo de quantas vezes cheguei em sua sala na graduação com algum ponto importante para decidir ou apenas precisando ouvir uma palavra amiga e claro eu saía muito calma e com as palavras certas. Para mim, você Jô é uma pessoa evoluída e abençoada imensamente por Deus, que consegue ver a vida diferente e sempre a frente. Eu te admiro muito minha querida professora, sorte eu tive de ser sua orientada, muito do que sou hoje, foi graças a você.

Aos membros do Laboratório de Experimentação Avícola (LEA). Serei sempre grata por todo apoio e dedicação no decorrer do projeto. Muito obrigado e espero um dia poder auxiliá-los em algo. Gratidão especial ao Carlos, por ser essa pessoa responsável e me ajudar tanto e para meus colegas de mestrado Regina, Sabrina e Alisson.

Agradeço a pós doutoranda, Laura, pessoa para frente, muito honesta e sempre disposta a ajudar. Foi um prazer conhecer você.

À Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, por mais essa oportunidade.

Aos professores do programa de pós-graduação, por todos os ensinamentos e tempo que dedicaram a repassar seu conhecimento.

À empresa Hipra, por ter possibilitado a realização desta pesquisa, dando todo o suporte necessário, em especial agradeço Luis Pantoja.

Agradecimento muito especial ao meu amigo Fabiano Fabri, por sempre acreditar e confiar em mim. Você é o profissional que me inspira ser sempre melhor.

Natacha, minha grande amiga, minha segunda mãe, obrigada por sempre me ouvir, entender e apoiar.

Espero um dia retribuir a ajuda de vocês. Nessas ocasiões é que percebemos o valor de verdadeiras amizades e o quanto devemos preservá-las.

Deus me proteja de mim e da maldade de gente boa, da bondade da pessoa ruim.
Deus me governe e guarde ilumine e zele assim

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de uma vacina atenuada por precocidade como alternativa as drogas anticoccidianas utilizadas no controle da coccidiose, associado a um aditivo nutricional na dieta, sobre o desempenho produtivo e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados. Foram utilizados 672 pintinhos machos, da linhagem Ross, provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas de idade. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2 (4 programas de controle vs 2 condições sanitárias) totalizando 8 tratamentos com 6 repetições de 14 aves cada. Os resultados obtidos no experimento foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) e quando significativas, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey. As aves que foram desafiadas apresentaram menores ($P<0,05$) resultados de desempenho produtivo independente dos tratamentos, demonstrando similaridade na efetividade de ambos os programas anticoccidianos. A associação de vacina e aditivo melhorou ($P<0,05$) a conversão alimentar entre 21 e 28 dias. Para morfometria do duodeno, houve menor ($P<0,05$) relação vilo:cripta aos 19 dias e área de absorção aos 28 dias para grupo desafiado. No desdobramento da interação, o programa anticoccidiano acrescido de aditivo resultou em menor ($P<0,05$) espessura da camada muscular do grupo desafiado. No jejuno, aves vacinadas demonstraram maior ($P<0,05$) largura de vilo e o programa anticoccidiano maior ($P<0,05$) área de absorção aos 19 dias. No desdobramento da interação, a associação de aditivo e vacina melhorou ($P<0,05$) a profundidade de cripta e o programa vacina resultou em menor ($P<0,05$) relação vilo:cripta para aves desafiadas. Aos 28 dias, o programa vacina apresentou maior ($P<0,05$) comprimento do vilo e profundidade de cripta, o que demonstra maior resposta regenerativa do jejuno. No íleo, a associação de vacina e aditivo apresentou maior ($P<0,05$) largura de vilo aos 19 dias e o programa anticoccidiano acrescido de aditivo apresentou menor ($P<0,05$) profundidade de cripta e maior área de absorção aos 28 dias, porém não apresentou melhores valores que o programa vacina acrescido de aditivo. Aves desafiadas apresentaram maior ($P<0,05$) distância de deslocamento do probe aos 19 dias, ou seja, característica mais elástica, pois no momento da cicatrização do tecido lesionado é utilizado colágeno. Não houve ($P>0,05$) efeito significativo para oxidação lipídica, contagem de células em mitose na cripta da mucosa do jejuno em relação aos programas de controle e as condições sanitárias avaliadas. O programa vacina anticoccidiana acrescido de aditivo apresentou maior ($P<0,05$) capacidade antioxidante sérica de DPPH aos 19 dias. O grupo vacinado demonstrou o maior nível de ABTS aos 19 dias, impactando positivamente na capacidade de proteção antioxidante. Os níveis séricos de FITC-d foram menores ($P<0,05$) para grupo desafiado. No desdobramento da interação dos fatores para o valor b^* mensurado na pele do peito das aves, observou-se maior ($P<0,05$) valor quando foi adicionado o aditivo nutricional ao programa vacina. Aves vacinadas demonstraram menor escore de lesão para *E. tenella* aos 19 dias. O programa vacina associado ao aditivo, resultou em maior ($P<0,05$) coloração de pés para grupo controle aos 19 dias comparado com o programa anticoccidiano na ausência de aditivo. O comportamento de excreção de oocistos das aves vacinadas demonstrou formação de imunidade e ambos os programas anticoccidianos foram efetivos para controle da coccidiose. O controle da coccidiose em frangos de corte com uso de vacina atenuada por precocidade pode ser uma alternativa eficaz e segura e capaz de proporcionar desempenho zootécnico semelhante àquele obtido com o programa anticoccidiano em situações de desafio ou não. O uso de um aditivo nutricional com ácidos graxos de cadeia curta e média pode ser usado em associação com programa anticoccidiano para potencializar os resultados.

Palavras-chave: Controle coccidiose, vacinas atenuadas, aditivo nutricional, saúde intestinal, frango de corte

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effectiveness of a precocity attenuated vaccine as an alternative to anticoccidial drugs used to control coccidiosis, associated with a nutritional additive in the diet, on the productive performance and the intestinal health of challenged broilers. For the accomplishment of this study 672 male chicks of the Cobb Slow line with from dams around 40 weeks old. The birds were distributed in a completely randomized design in a 4 x 2 factorial scheme (4 control programs versus 2 sanitary conditions) resulting in 8 treatments and 6 replicates of 14 birds per box. The results obtained in the experiment were analyzed using analysis of variance (ANOVA) of the General Lineal Model (GLM) procedure with the aid of the statistical program SAS (Statistical Analysis System) and when significant, the means between treatments were compared by Tukey test. The birds that were challenged had smaller ($P < 0,05$) performance results regardless of the of treatments, demonstrating similarity in the effectiveness of the both anticoccidial programs. The association of vaccine and additive improved ($P < 0,05$) feed conversion between 21 and 28 days. For duodenum morphometry, there was smaller ($P < 0,05$) villus: crypt ratio at 19 days and absorption area at 28 days for the challenged group. In the unfolding of the interaction, the anticoccidial program with the addition of additive resulted in smaller ($P < 0,05$) muscle layer thickness in the challenged group. In the jejunum, vaccinated birds demonstrated greater ($P < 0,05$) villi width and the anticoccidial program greater area of absorption at 19 days. In the unfolding of the interaction, the association of vaccine and additive improved ($P < 0,05$) depth of the crypt and the vaccine program resulted in smaller ($P < 0,05$) villo: crypt ratio for challenged birds. At 28 days, the vaccine program presented greater ($P < 0,05$) villus length and crypt depth, which demonstrates higher jejunum regenerative response. In the ileus, the association of vaccine and additive showed greater ($P < 0,05$) villi width at 19 days and the anticoccidial program with the addition of additive presented smaller ($P < 0,05$) crypt depth and greater area of absorption at 28 days, however it did not show better values than the vaccine program plus an additive. Challenged birds had a greater ($P < 0,05$) probe displacement distance at 19 days, that is, a more elastic characteristic, as collagen is used at the time of healing of the injured tissue. There was no significant effect ($P > 0,05$) for lipid oxidation and cell count in mitosis in the jejunal mucosa crypt in relation to the control programs and the sanitary conditions evaluated. The vaccine program plus additive showed higher serum antioxidant capacity of DPPH at 19 days. The vaccinated group showed the highest ($P < 0,05$) level of ABTS at 19 days, positively impacting the antioxidant protection capacity. Serum FITC-d levels were lower ($P > 0,05$) for the challenged group. In the unfolding of the interaction of the factors for the b^* value measured on the broiler breast skin, a greater ($P < 0,05$) value was observed when the nutritional additive was added to the vaccine program. The vaccinated chickens showed smaller ($P < 0,05$) lesion score for *E. tenella* at 19 days. The vaccine program associated with the additive resulted in greater coloration of chicken feet for the control group at 19 days compared to the anticoccidial program without additive inclusion. The oocyst excretion behavior of the vaccinated birds demonstrated immunity formation and both anticoccidial programs were effective for the control of coccidiosis. The control of coccidiosis in broiler chickens using a vaccine attenuated by precocity can be an effective and safe alternative, capable of providing zootechnical performance similar to that obtained with the anticoccidial program in challenging situations or not. The use of a nutritional additive with short and medium chain fatty acids can be used in association with an anticoccidial program to enhance the results.

Keywords: Control coccidiosis, precocity attenuated vaccine, nutritional additive, intestinal health, broiler

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: CICLO DE VIDA EIMERIA SPP.	22
FIGURA 2: ESTRUTURA QUÍMICA DA NICARBAZINA	29
FIGURA 3: ESTRUTURA QUÍMICA DA NARASINA	30
FIGURA 4: OOPG COM VACINA ATENUADA POR PRECOCIDADE	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: ESCORE DE LESÃO INTESTINAL CAUSADA POR EIMERIA ACERVULINA, E. MAXIMA E E. TENELLA.....	24
TABELA 2: TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS.....	58
TABELA 3: INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS DIETAS	60
TABELA 4: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO, ANTES DO DESAFIO ENTÉRICO	67
TABELA 5: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (14 A 19 E 19 A 21 DIAS) SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	68
TABELA 6: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (14 A 21 E 21 A 28 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	70
TABELA 7: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (1 A 21 E 1 A 28 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	71
TABELA 8: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	73
TABELA 9: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA CAMADA MUSCULAR DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	74

TABELA 10: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	76
TABELA 11: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO PC DO JEJUNO (19 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	77
TABELA 12: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA RELAÇÃO VILO:CRIPTA (19 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	77
TABELA 13: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	78
TABELA 14: TENSÃO DE RUPTURA, DISTÂNCIA E DUREZA DE ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	79
TABELA 15: OXIDAÇÃO LIPÍDICA – TBARS DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	80
TABELA 16: CAPACIDADE ANTIOXIDANTE SÉRICA DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	81
TABELA 17: COLORAÇÃO DE PELE DO PEITO E PÉS DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU	

NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	83
TABELA 18: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO PARA VARIÁVEL B* DA PELE DE PEITO DE FRANGOS DE CORTE AOS 28 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	84
TABELA 19: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA COR DOS PÉS DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	84
TABELA 20: NÍVEIS SÉRICOS DE FITC-D E CONTAGEM DE CÉLULAS EM MITOSE DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	86
TABELA 21: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DE FITC-D PARA FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.....	86
TABELA 22: ESCORE DE LESÃO INTESTINAL E COR DOS PÉS DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	88
TABELA 23: OOPG DE FEZES DE FRANGOS DE CORTE DE 21 E 28 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO	91
TABELA 24: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DE OOPG DE FRANGOS DE CORTE DE 21 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM	

ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E
SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO91

LISTA DE SÍMBOLOS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal
AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta
AGCM – Ácidos graxos cadeia média
AGP – Promotores de crescimento de antibióticos
AVBP – American Veterinarians in Broiler Production
Ca – Cálcio
CA – Coccidiose aviária
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
DNC – 4,4- Dinitrocarbálica
EUA – Estados Unidos
FITC-d – Isotiocianato de Dextrano de Fluoresceína
GALT– Tecido linfóide associado ao intestino
HPD – Hidroxi-4,6-Dimetil Pirimidina
IFN – Interferon
IL – Interleucina
K – Potássio
Mg – Magnésio
Na – Sódio
NAD – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NK– Células Natural Killer
OoPG – Contagem de oocistos por grama de fezes
PCR – Reação em cadeia da polimerase
SPF – Specific Pathogen Free (Livre de patógenos específicos)
TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA – Ácido tricloroacético
TGI – Trato gastrointestinal
TNF – Fator de necrose tumoral
UFC – Unidade formadora de colônia
UFPR – Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Coccidiose aviária	20
2.2 Controle da coccidiose	25
2.2.1 Métodos sanitários	26
2.2.2 Anticoccidianos.....	28
2.2.3 Controle da coccidiose com uso de vacinas.....	32
2.3 Aditivos nutricionais.....	38
2.3 REFERÊNCIAS	42
3 OBJETIVOS.....	52
3.1 Objetivo geral.....	52
3.2 Objetivos específicos	52
CAPÍTULO 1: EFEITO DO USO DE UMA VACINA ATENUADA POR PRECOCIDADE COMO ALTERNATIVA NO CONTROLE DA COCCIDIOSE, ASSOCIADO A SUPLEMENTAÇÃO DE UM ADITIVO NUTRICIONAL, SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E A SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS.....	53
1 INTRODUÇÃO.....	55
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4 CONCLUSÕES.....	92
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93
REFERÊNCIAS	94

1. INTRODUÇÃO GERAL

A partir dos anos 50, a avicultura mundial evoluiu de forma significativa, devido os avanços em nutrição, ambiência, sanidade e automação, fornecendo assim, ambiente e manejo favoráveis para obtenção de melhores resultados zootécnicos.

A produção brasileira de carne de frango poderá alcançar 14,5 milhões de toneladas no ano de 2021, sendo 5,5% a mais que o total previsto para 2020. No que remete as exportações, estas deverão chegar a 4,35 milhões de toneladas, representando um aumento de cerca de 3,6% quando comparado com os valores do ano de 2020, o que classifica o Brasil como terceiro maior produtor e o maior exportador da carne de frango do mundo (ABPA, 2020).

O sistema intensivo de produção de frangos de corte, mesmo com uso de alto padrão tecnológico, não assegura que o ambiente de criação das aves esteja livre de patógenos. Quando presentes, os patógenos prejudicam a eficiência do aproveitamento dos nutrientes das rações, em decorrência do possível surgimento de desordens entéricas (RAMOS et al., 2011).

O aparelho digestivo é uma interface entre o que entregamos ao animal a partir de um ambiente variável e seu sistema interno, altamente homeostático. Um adequado plano nutricional deve ser estabelecido, a fim de fornecer as necessidades nutricionais para manutenção e desenvolvimento das aves, fazendo com que o entendimento e a compreensão da estrutura e funcionalidade do sistema digestivo das aves, é grande importância para produção animal.

A coccidiose aviária (CA), é uma patologiaparasitária de grande relevância para a produção avícola industrial. De acordo com o relatório anual apresentado pela American Veterinarians in Broiler Production (AVBP), a coccidiose e o uso de antibióticos foram listados como os dois principais desafios para as empresas de frangos de corte (CONWAY, 2018). A CA é transmitida ao hospedeiro por ingestão do protozoário intracelular do gênero *Eimeria* na forma de oocistos esporulados. O ciclo de vida do parasita acontece em 2 fases, uma endógena, onde ocorre estágios de replicação assexuados e sexuais causando destruição de células do epitélio intestinal em processo de replicação finalizando com a liberação no ambiente de oocistos imaturos pela luz intestinal e uma

exógena, na qual ocorre a esporulação do oocisto no ambiente para se tornar infeccioso novamente (CONWAY e MCKENZIE, 2007).

Além do impacto negativo no desempenho zootécnico, a coccidiose também pode levar a mortalidade, a tornando uma patologia de suma relevância econômica para a avicultura industrial, haja vista, que seus impactos geram um déficit econômico em todo o mundo, estimado em US\$ 3 bilhões ao ano, incluindo os gastos com medicamentos anticoccidianos profiláticos ou terapêuticos incorporados na ração. Estima-se no Brasil, que a perda anual exceda a US\$ 30 milhões devido a doença (FEDDERN et al., 2016).

Dessa maneira, é extremamente importante a definição de um programa preventivo adequado para controle da coccidiose, visando manter a integridade e saúde do epitélio intestinal e, conseqüentemente, maximizar a digestão e absorção de nutrientes, para obter ótimos resultados zootécnico e financeiros.

A biossegurança, limpeza e desinfecção das instalações, tratamento da cama, podem ser ferramentas para o controle dessa enfermidade, mas não são medidas totalmente eficazes para eliminação a infecção no hospedeiro, já que os oocistos são extremamente resistentes e se distribuem rapidamente no ambiente, necessitando de ações conjuntas ao manejo.

A inclusão de drogas anticoccidianas na ração de frangos de corte é um método preventivo muito utilizado (CHAPMAN et al., 2010). No entanto a preocupação mundial em relação à utilização de medicamentos na alimentação animal e aos seus impactos para a saúde humana (MOURA, J, 2021), o uso restrito de drogas anticoccidianas em países europeus desde 2006 e o total banimento proposto para 2021 (EUROPEAN COUNCIL, 2011), fazem com que métodos de controle alternativos para a coccidiose sejam urgentemente considerados (NOIROT, 2010). Dessa forma, houve a necessidade do desenvolvimento novas alternativas para o controle da coccidiose como o uso de vacinas e outros métodos alternativos (QUIROZCASTAÑEDA e DATAN-GONZALES, 2015).

Diante deste cenário, o uso de vacinas com cepas atenuadas por precocidade podem ser uma excelente alternativa aos anticoccidianos controle da CA em frangos de corte. Uma vez que promovem imunidade celular precoce, efetiva e com o diferencial de causar menores danos ao epitélio intestinal, pois

a *Eimeria spp* selecionada por precocidade possui capacidade limitada de replicação quando comparada com cepas não atenuadas (SHARMAN et al., 2010). Isso significa que a quantidade de oocistos no pico de replicação da cepa da vacina atenuada será muito menor e a mucosa intestinal estará íntegra para maximizar a capacidade genética de desenvolvimento do animal.

Em adição, o uso de aditivos nutricionais vem ganhando destaque na indústria avícola, devido sua utilização como ferramenta para melhorar o desempenho zootécnico, além de um aliado alternativo aos medicamentos antimicrobianos comumente utilizados.

Dessa forma, a combinação das tecnologias de vacina contra coccidiose e suplementação com os aditivos na dieta, se mostra uma promissora alternativa para o controle dos problemas de enterites desencadeados por disbacterioses e para a promoção da saúde intestinal e melhora dos resultados zootécnicos de frangos de corte

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Coccidiose aviária

A coccidiose aviária é uma doença endêmica, transmitida por protozoários intracelulares que pertencem ao Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Sub-classe Coccidia, Ordem Eucoccidia, Subordem Eimeriidae e Gênero *Eimeria* (FORTES, 2004).

Cada espécie tem suas próprias características com relação à prevalência, local de infecção, patogenicidade e imunogenicidade, no entanto, sete espécies de *Eimeria* são conhecidas por infectar aves: *Eimeria acervulina*, *E. máxima*, *E. tenella*, *E. brunetti*, *E. necatrix*, *E. mitis* e *E. praecox* (ROSE E LONG, 1980).

Moraes et al. (2015) ao estudarem sobre prevalência de Coccidiose em Santa Catarina, Brasil pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) mostrou que 96% das granjas foram positivas para *Eimeria spp*, com sete

identificadas: *Eimeria acervulina* (63,3%), *E. máxima* (63,7%), *E. tenella* (54,6%), *E. brunetti* (13,1%), *E. necatrix* (24,3%), *E. mitis* (38,6%) e *E. praecox* (25,1%).

De acordo com Gonzales (2001) as espécies do gênero *Eimeria* infectam o epitélio intestinal, caracterizada pela invasão do parasita nos enterócitos das aves acometidas e como consequência promovem a diminuição da digestão e absorção intestinal de nutrientes essenciais para seu desenvolvimento. Dessa forma, para haver comprometimento do desempenho zootécnico das aves e da produtividade econômica da indústria avícola.

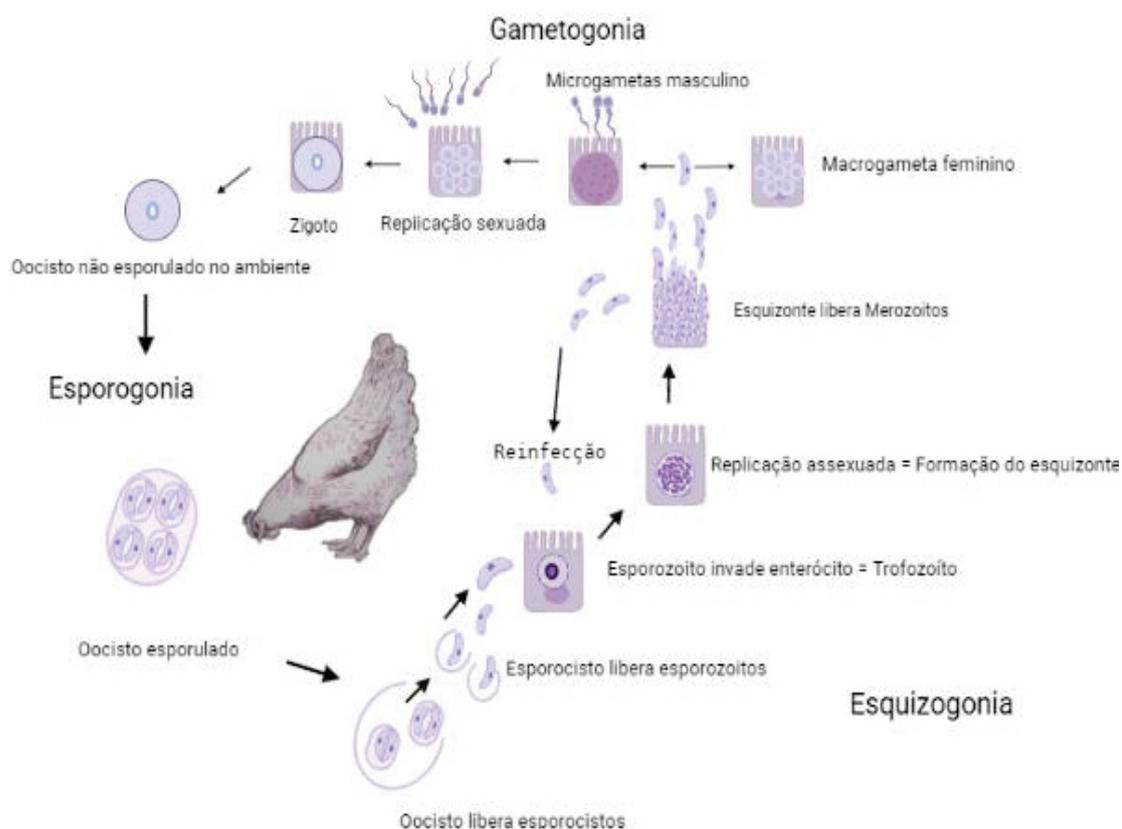
A disseminação da coccidiose nos aviários pode ser facilitada devido o hábito das aves de ciscar a cama. O contato com as fezes juntamente com a alta densidade de criação, se tornam o ambiente favorável para esporulação dos oocistos. A espessa parede do oocisto foi associada à sua estrutura de bicamada, composta de lipídios e proteínas. A camada de proteína fornece ao oocisto grande estabilidade contra o frio e calor extremos, enquanto a camada lipídica protege contra agentes químicos (BELLI et al. 2006). O grau de esporulação é determinado por fatores ambientais como temperatura ambiente em torno de 25° e umidade relativa ao redor de 60%, esses parâmetros favorecem a esporulação e viabilidade do oocisto (RAZMI e KALIDERI, 2000).

Devido à sua capacidade de esporular, a habilidade infecciosa do oocisto é ampliada, uma vez que somente oocistos esporulados são infecciosos. Quando esporulado pode sobreviver fora de seu hospedeiro por 602 dias, enquanto oocistos não esporulados podem sobreviver por cerca de 7 meses no intestino de seu hospedeiro (CASTAÑEDA e GONZÁLEZ, 2015).

O ciclo de vida de *Eimeria* spp. descrito por MacDougald e Fitz-Coy (2013) é iniciado com a ingestão do oocisto esporulado de *Eimeria* pelas aves e quebra da parede do oocisto por ação mecânica na moela, liberando 4 esporocistos, estes chegam no intestino e 2 esporozoítos são liberados de cada esporocisto, devido ação da quimiotripsina e sais biliares. Em seguida, evoluem para trofozoítos, infectam enterócitos e inicia a reprodução assexuada (fase de esquizogonia), ocorre desenvolvimento e multiplicação de merozoítos (esquizontes) dentro da célula intestinal, rompem a mesma e liberam merozoítos na luz intestinal que irão invadir novas células epiteliais do intestino, iniciando uma nova geração do parasita (figura 1)

No mínimo duas gerações assexuadas ocorrem para que ocorra a fase sexuada (gametogonia). Na última geração da esquizogonia, macrogametas (femininos) e microgametas (masculinos) se diferenciam e acontece o processo de fecundação e formação do zigoto que se transforma em oocisto imaturo e é liberado com as fezes no ambiente. No ambiente, sob condições propícias de umidade e temperatura, ocorre a última etapa do ciclo, a esporogonia, onde oocistos esporulam e se tornam infectantes.

FIGURA 1: CICLO DE VIDA *EIMERIA SPP.*



Fonte: Oliveira, C.B., (2021) – (Adaptação de Conway e Mekenzie,2007).

Todo o ciclo pode levar de 4 a 6 dias dependendo da espécie. No caso da *Eimeria tenella* e *E. necatrix*, a lesão macroscópica somente é visualizada na segunda geração de esquizontes. As lesões ocasionadas pela coccidiose podem favorecer a infecção por outros microorganismos como *Clostridium perfringens* e *Salmonella spp.* (SANTIN, 2017).

A gravidade de uma infecção de coccidiose é correlacionada com a carga de oocistos ingeridos, patogenicidade da espécie envolvida e status imunológico

do hospedeiro (DAKPOGAN et al., 2012). A forma mais comum de diagnosticar a doença em lotes de frangos de corte é a presença de sintomatologia clínica podendo ser classificada como clínica ou subclínica.

A doença de caráter clínico, pode ser desenvolvida quando aves suscetíveis ingerem grande número de oocistos selvagens e esporulados. Nesse caso, podem sinais como diarreia, presença de sangue nas fezes, passagem de ração nas excretas, apatia, queda súbita de ganho de peso e consumo de alimento podem ser visualizados e, em alguns casos podendo levar a ocorrência de mortalidade. Segundo Korver (2019), a ave ainda pode sofrer degradação muscular para compensar a baixa absorção de aminoácidos devido às lesões intestinais.

A manifestação subclínica, não apresenta sinais clínicos perceptíveis. Gazoni et al. (2021) ao estudarem sobre a prevalência de coccidiose entre 2012 e 2019 no Brasil, demonstrou que a cada 10 aves, 3,5 apresentam coccidiose subclínica e que a mesma é responsável pela redução no desempenho produtivo de frangos de corte, além de ser um fator predisponente para infecções secundárias.

Outra maneira de diagnosticar a coccidiose é a presença de lesões macroscópicas no epitélio intestinal. De acordo com Back (2019), as lesões podem ser encontradas em três regiões distintas do intestino, sendo elas:

No terço anterior do intestino a *Eimeria acervulina* é a espécie prevalente e sua patogenicidade é considerada moderada a alta. Ela produz lesões principalmente no duodeno. Observa-se o espessamento da mucosa intestinal e enterite discreta a severa. A mucosa pode apresentar lesões esbranquiçadas puntiformes ou coalescentes, formando estrias transversais ou placas.

Já no terço médio, podem ser observadas lesões decorrentes de duas eimeiras importantes. A primeira é a *Eimeria necatrix* (muito patogênica) que causa enterite severa, congestão, hemorragia e necrose no íleo, lesões puntiformes branco-amareladas e intercaladas com pontos avermelhados, as aves podem eliminar sangue nas fezes. A segunda, é a *Eimeria máxima* (moderada patogenicidade) que provoca enterite com espessamento da parede da mucosa e dilatação no jejuno e íleo, acúmulo de muco amarelo-alaranjado e fluido.

E por fim, na porção final, as eimeiras predominantes são a *Eimeria brunetti* (moderada patogenicidade) causadora da enterite necrótica e formação de massa fibrinosa e ou fibrino-necrótica na mucosa do reto e o ceco e a *E. tenella* (mais patogênica), que parasita o ceco e provoca espessamento da parede com hemorragia, necrose e acúmulo de sangue no lúmen.

A *Eimeria mitis* e *E. praecox* apresentam patogenicidade moderada e não desenvolve lesões macroscópicas visíveis. Porém, Long e Reid (1982) demonstraram a localização de predileção dessas espécies, sendo que a *E. mitis* fica localizada na porção final do intestino (íleo e cecos) enquanto a *E. praecox* tem preferência pela porção inicial (duodeno).

Geralmente, infecções por *Eimeria* envolvem mais de uma espécie. Répérant et al. (2012) descobriram que a associação de *E. praecox* e *E. acervulina*, pode acentuar o efeito negativo da infecção e consequentemente prejudicar o crescimento e desenvolvimento das aves, isto é, o prejuízo é maior em comparação de uma infecção com apenas *E. acervulina*.

As lesões causadas por esses protozoários podem ser avaliadas por escores de zero a quatro conforme tabela 1, onde zero é ausência de lesão e quatro é lesão grave.

TABELA 1: ESCORE DE LESÃO INTESTINAL CAUSADA POR EIMERIA ACERVULINA, E. MAXIMA E E. TENELLA.

<i>E. acervulina</i> (Intestino anterior)	Escore 0: Ausência de lesões.
	Escore 1: Pontos brancos na MI (até 5 pontos por cm ²).
	Escore 2: Pontos brancos em maior quantidade, mas não coalescentes. CI normal.
	Escore 3: Pontos brancos coalescentes. MI espesa e CI aquoso.
	Escore 4: Pontos brancos coalescentes. MI espesa e coloração acizentada, CI cremoso.
<i>E. maximo</i> (Intestino médio)	Escore 0: Ausência de lesões.
	Escore 1: Pequenas petéquias na serosa do intestino, CI com pouco muco alaranjado.
	Escore 2: Mais petéquias, CI com mais muco alaranjado. Início de MI espessa e embolonada.
	Escore 3: MI mais espessa e embalonada, CI com alguns coágulos de sangue.
	Escore 4: MI espessa e embalonada em quase toda sua extensão, CI com coágulos de sangue.
<i>E. tenella</i> (Cecos)	Escore 0: Ausência de lesões
	Escore 1: Poucas petéquias dispersas na MI do ceco e CI normal.
	Escore 2: Número maior de petéquias e CI com sangue aquoso. MI com leve engrossamento.
	Escore 2: CI com sangue e pouco ou nenhum conteúdo fecal. MI espessa e trabéculas disformes.
	Escore 4: MI distendida com sangue, necrose e perca de trabéculas. Material fecal ausente.

MI: Mucosa ou parede intestinal, CI: Conteúdo intestinal

Fonte: Oliveira, C.B., 2021 (Adaptado de Johnson e Reid, 1970.)

Análises laboratoriais também podem auxiliar o diagnóstico da coccidiose e demonstrar a situação relacionada a epidemiologia e nível de desafio da coccidiose na granja. As análises mais utilizadas são o exame histopatológico, técnica que determina a presença de lesões microscópicas no epitélio intestinal e a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) por flutuação em solução salina e a avaliação morfológica das espécies de *Eimeria*. Essas últimas análises podem demonstrar a situação relacionada a epidemiologia e nível de desafio da coccidiose na granja.

2.2 Controle da coccidiose

O rápido ciclo de replicação do parasita no intestino intensifica a disseminação e infecções recorrentes no plantel de aves (SHIVARAMAIAH et al., 2014). Dessa maneira, o controle da parasitose é um grande desafio para a avicultura industrial.

Em 2016, uma avaliação demonstrou que o custo global da coccidiose em frangos de corte é estimado em £ 10,36 bilhões, incluindo perdas durante a produção e custos para profilaxia e tratamento. Para o Brasil, os custos referentes as perdas foram por volta de £ 966,94 milhões (BLACK, 2020).

De acordo com Korver (2019b), quase 18% do valor global gasto com coccidiose é devido ao custo da profilaxia e mais de 80% são referentes aos efeitos subclínicos em relação as perdas no ganho de peso e taxa de conversão alimentar. Dessa forma, o impacto econômico gerado pela queda de produtividade supera muito o custo de prevenção da doença, além de causar mortes e diminuir a resposta imunológica das aves contra outras enfermidades que igualmente podem levar à mortalidade.

Segundo Lancini (2021) a necessidade de medicar um lote com sinais de coccidiose sinaliza alguma falha no método de controle. De acordo com a informação do gasto global com tratamentos descrito com Black (2020), essas falhas podem significar oportunidades para novas estratégias nos programas de controle contra a coccidiose utilizados na produção avícola.

Portanto, estabelecer um programa preventivo no controle da coccidiose para cada situação de desafio ou época do ano é fundamental para manutenção

da integridade e saúde do epitélio intestinal e, conseqüentemente, maximizar a obtenção de resultados zootécnicos e financeiros. Segundo Gonzales (2001) existem três métodos de controle da coccidiose, que são os métodos sanitários (desinfecção), medicamentosos (preventiva e curativa) e imunológicos (vacina).

2.2.1 MÉTODOS SANITÁRIOS

As aves acometidas por *Eimeria spp* eliminam oocistos nas excretas, os quais são extremamente resistentes no ambiente e se distribuem rapidamente, podendo permanecer viáveis por longo período ou serem transportados por fômites para outras áreas, expandindo ainda mais sua disseminação. Em vista disso, ferramentas de limpeza e desinfecção, tratamento de cama e procedimentos de biossegurança são utilizados como métodos sanitários com objetivo de diminuir o grau de infecção da coccidiose no ambiente.

A desinfecção dos equipamentos e galpões de frangos de corte, pode auxiliar a diminuição da pressão de infecção, mas é um procedimento pouco eficiente em erradicar os oocistos presentes no ambiente de criação.

Os desinfetantes a base de aldeídos e agentes oxidantes foram estudados por Koski et al., 2016 e El-dakhly et al., 2018 no Egito para compreender a atividade sobre a esporulação de oocistos de *Eimeria spp*. O estudo realizado *in vitro* revelou que não houve atividade anticoccidiana dos compostos avaliados sobre os oocistos. Esta resistência pode estar relacionada com a proteólise da parede do oocisto e da impermeabilidade de substâncias solúveis (SHAH et al., 2017). Além disso, a desinfecção com amônia quaternária não causou nenhum efeito como método de controle dos oocistos de *E. acervulina* na cama de frangos de corte (GUIMARÃES et al. 2007).

Guimarães et al. (2007b) relataram que oocistos são refratários aos desinfetantes comumente usados. Diante disso, torna-se mais comum o uso de medicamentos anticoccidianos em doses elevadas, propiciando assim, um aumento da resistência dos oocistos aos agentes antiparasitários e possibilitando ocorrências de resíduos de medicamentos em produtos avícolas (RYLEY, 1980).

Na avicultura industrial, a contaminação de patógenos ambientais e a reinfecção das aves estão intimamente ligadas à alta densidade populacional e ao curto ciclo produtivo (ASSIS et al., 2013).

Procedimentos de biossegurança podem auxiliar na diminuição do número de oocistos no ambiente. O vazio sanitário é o período que uma instalação permanece na ausência de aves e sucede processos de limpeza e desinfecção, com objetivo de eliminar microrganismos do ambiente. No caso da parasitose em questão, essa prática não é totalmente eficaz na eliminação dos oocistos do ambiente, devido sua resistência, ou seja, é obtido apenas diminuição do nível de parasitas.

O oocisto eliminado nas fezes da ave infectada possui forma não infectiva, necessitando passar pelo processo de esporulação que acontece na cama do aviário, sendo este, um dos fatores mais importantes no ciclo de vida do protozoário. Em alguns países, a cama é substituída após cada ciclo de alojamento, enquanto em outros é comum a prática de criar vários lotes na mesma cama.

No Brasil, não existe uma legislação que defina o número máximo de reusos da cama de frango (BRASIL, 2017). Quanto à reutilização da cama de frango, a mesma deve ser proveniente de lotes saudáveis e submetida a um tratamento adequado, evitando-se assim que aja como vetor de bactérias patogênicas (DINIZ et al., 2015).

A quantidade e tipos de microrganismos presentes na cama, são influenciados pelo número de reusos, forma de manejo do material após a saída do lote, tempo de fermentação, densidade de aves no galpão e período de vazio sanitário (GARCIA et al., 2013; SANTOS et al., 2012).

O tratamento correto da cama para a reutilização pode contribuir para diminuir a sobrevivência dos oocistos. Entre os métodos mais usados na avicultura industrial brasileira estão: aplicação de oxido de calcário na cama e métodos fermentativos, como o enleiramento da cama no centro do aviário e a cobertura com lona em todo o aviário (SILVA et al., 2007).

Costa e Ávila (2003) relatam que o tratamento de fermentação com lona na cama do aviário com oocistos (cobertura da cama com lona plástica) produz aumento de temperatura e evaporação da umidade, que se deposita próximo a lateral da lona onde novamente condensa. Dessa forma, os oocistos nessa região não são destruídos e voltam a parasitar as aves dos lotes subsequentes.

Os métodos sanitários, práticas de biosseguridade podem reduzir o número de oocistos no ambiente e conseqüentemente diminuir a exposição à infecção, mas não elimina todos os oocistos do ambiente. Isto é, isoladamente não é uma medida eficiente para impedir a infecção da coccidiose no hospedeiro, mas quando utilizado associado a outras formas de controle (anticoccidianos e vacinas) pode potencializar o programa de controle contra a parasitose.

2.2.2 Anticoccidianos

Os anticoccidianos são produtos adicionados à ração com a finalidade de prevenir a coccidiose em frangos de corte. Duas categorias são empregadas na avicultura, as drogas sintéticas (produtos químicos) produzidos por síntese química e compostos ionóforos produzidos mediante a fermentação de cultura de uma variedade de microrganismos. As duas classes controlam a pressão de infecção de 2 formas, interrompendo o ciclo do parasita sem destruí-lo (coccidiostáticas) e/ou eliminando os parasitas (coccidicidas).

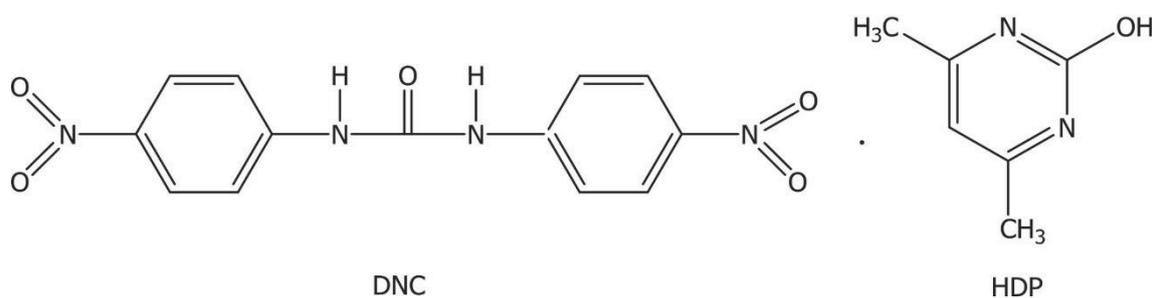
Os anticoccidianos químicos têm sido usados para o controle da coccidiose desde o final de 1940, somente em 1970 com os anticoccidianos ionóforos passaram a ser utilizados (CHAPMAN, 2009).

Os compostos químicos possuem mecanismo de ação em diferentes vias do metabolismo e fases do ciclo do parasita, isto é, inibem o desenvolvimento das eimerias dentro dos enterócitos. Os químicos registrados no Brasil Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso preventivo em rações de frangos de corte são: nicarbazina, diclazuril, robenidina, decoquinato, clopidol + metilbenzoquato. Outras moléculas como sulfaquinoxalina, toltrazuril e amprólio podem ser utilizadas de forma curativa em casos de surtos em granjas.

Um dos últimos compostos químicos lançados no mercado brasileiro mundial foi o diclazuril (1989) e até o momento, não há indícios de lançamentos de novos anticoccidianos (WITCOMBE e SMITH, 2014).

A Nicarbazina é um coccidiostático de estrutura química formado por um complexo equimolar de 4,4- Dinitrocarbalinida (DNC) e 2-Hidroxi-4,6-Dimetil Pirimidina (HDP) (Figura 2).

FIGURA 2: ESTRUTURA QUÍMICA DA NICARBAZINA



Fonte: EFSA, 2018.

A nicarbazina atua sobre o metabolismo da eiméria por meio da inibição do NAD⁺ (esgota o funcionamento da bomba de sódio e potássio) em que os esquizontes de segunda geração e seus merozoítos são destruídos ou têm seu desenvolvimento interrompido (PLANALQUÍMICA, 1994). De acordo com Yoder (2005) parte do fármaco não é absorvido no intestino da ave, dessa forma permanece no sangue por aproximadamente quatro dias antes de ser eliminado pelas fezes e o HDP absorvido e eliminado dentro de 24 horas.

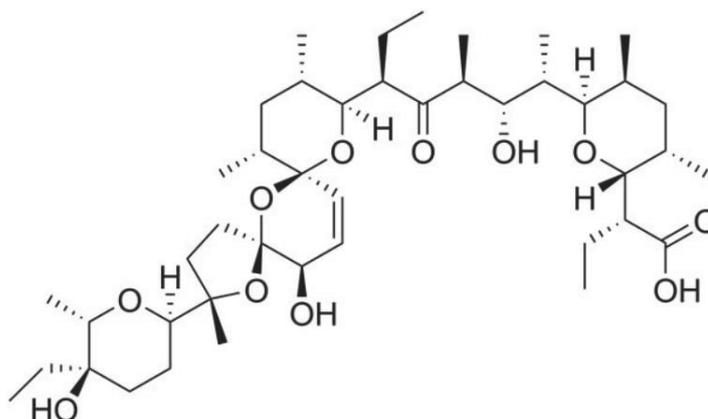
O uso da nicarbazina pode causar efeitos sobre as atividades fisiológicas das aves, como aumento no débito cardíaco e produção de calor corporal. Dessa forma, ocorre redução da habilidade dos frangos de corte de manter sua homeotermia, já que o químico também reduz a taxa respiratória das aves, influenciando o principal mecanismo de perda de calor corporal, podendo causar morte por estresse calórico e redução de consumo, quando os animais são mantidos em temperaturas elevadas (BEERS et al., 1989; WIERNUSZ e TEETER, 1995).

Os ionóforos por sua vez, atuam nas formas parasitárias de *Eimeria spp* que estão livres no lúmen intestinal. Sua ação se dá por meio do auxílio da

passagem de íons, tais como o Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , pelas membranas biológicas das células do parasita. Dessa maneira, a membrana do parasita se torna mais permeável aos íons fisiologicamente ativos, resultando em vacuolização interna e degradação dos estágios de esporozoíto e merozoíto através do severo dano osmótico. Os ionóforos registrados no MAPA para uso em rações de frangos de corte são: lasalocida, maduramicina, salinomicina, monensina, narasina e semduramicina (ROCHA, 2019).

Narasina é um antibiótico poliéster obtido de *Streptomyces aureofaciens* (JEFFERS et al., 1988). É um derivado de salinomicina tendo um grupo metil adicional, portanto, denominado 4-metil salinomicina (Figura 3). É rapidamente metabolizado e pouco absorvido no trato gastrointestinal, sendo excretado pelas fezes (LIMA et al., 2017).

FIGURA 3: ESTRUTURA QUÍMICA DA NARASINA



Fonte: Riddel, G.F e Tompsett, J.S, 1991.

Segundo Franco (2004) o balanço eletrolítico da dieta pode ser dificultado pelo fato da exigência de eletrólitos ser influenciada pela utilização de ionóforos nas rações. Além disso, podem apresentar efeito sobre o balanço de minerais, alterando sua disponibilidade e, conseqüentemente, a exigência nutricional para o adequado crescimento da ave.

O êxito do produto anticoccidiano dependerá do período, dose e tipo de droga utilizada, recomendações de uso, época do ano utilizada, interação

sinérgica ou antagônica com outros medicamentos, desafio existente na granja e da resistência dos parasitas ao princípio ativo (SOAVE, 2011).

Apesar dos anticoccidianos serem amplamente utilizados em frangos de corte, apresentam problemas associados a sensibilidade reduzida dos parasitas quando um determinado produto é usado por muito tempo ou alta frequência e também pela resistência cruzada entre certos compostos (MARIEN et al., 2007). Os primeiros casos de resistência da nicarbazina foram descritos em 1964 (CHAPMAN, 1998). Além disso, alguns produtos existentes são fornecidos para as aves em doses próximas de seu nível tóxico e podem causar mudanças significativas no metabolismo e desempenho do hospedeiro. Cepas de *Eimeria spp* resistentes a medicamentos são responsáveis pela coccidiose clínica e subclínica e, conseqüentemente, podem originar frangos com baixo desempenho zootécnico e perdas econômicas (SHIRZAD et al., 2011).

Outro fator relevante é em relação à legislação, já que alguns países proíbem o uso de determinados produtos continuamente até o abate, assim, períodos de retirada são exigidos, promovendo o aumento do risco de infecção no final do período de crescimento (VERMEULEN; SCHAAP; SCHETTERS, 2001). Além disso a utilização de uma única linha de produção para a fabricação de diferentes fases de rações usadas na alimentação dos frangos de corte, pode levar a ocorrência de contaminação entre as rações com e sem medicamentos (PIETRUK et al., 2015).

Atualmente são utilizadas duas estratégias para uso de anticoccidianos na avicultura. A primeira é de um programa de utilização contínuo (cheio), em que um medicamento é utilizado na ração até o final de vida da ave, respeitando-se os períodos de retirada, que podem variar de 3 a 10 dias e a segunda classificada como “dual”, utiliza diferentes classes de compostos no mesmo ciclo de alojamento, por exemplo, um composto químico (nicarbazina), na ração inicial, que elimina grande parte das *eimerias* e um ionóforo (narasina) na ração de crescimento, que permite a formação da imunidade celular.

O rápido ciclo de replicação do parasita no intestino intensifica a disseminação e infecções recorrentes no plantel de aves (SHIVARAMAIAH et al., 2014). O que tem aumentado as preocupações nos últimos anos sobre a segurança dos anticoccidianos em relação a resistência bacteriana e seu

potencial impacto na saúde humana, saúde animal e meio ambiente (ZIDAR 2012; NILSSON et al., 2012).

Vários anticoccidianos como a lasalocida e diclazuril podem ser excretados em até 95% da dose administrada como substâncias ativas não metabolizadas (HANSEN et al., 2009). Dessa maneira, existe a possibilidade da introdução de anticoccidianos no meio ambiente, devido a presença de resíduos medicamentosos nas fezes das aves, facilitando a disseminação da contaminação, principalmente quando o material da cama é utilizado como adubo em plantações.

O uso de anticoccidianos para controle da coccidiose em frangos de corte nas últimas décadas, resultou em seleção de cepas resistentes de *Eimeria*. Este cenário foi determinante para necessidade de novas abordagens alternativas para prevenção da coccidiose na avicultura. Até o momento, vacinas anticoccidianas atenuadas e não atenuadas provaram ser as mais sólidas e estratégia alternativa e bem-sucedida de prevenção e controle da coccidiose (PEEK E LANDMAN, 2011).

Fatores como qualidade e maneira que alimentos são produzidos, bem-estar animal, produtos geneticamente modificados, uso de promotores de crescimento, novas preferências culturais, preservação de recursos naturais e proteção ao meio ambiente se tornaram os grandes temas de debate sobre a evolução da agroindústria. É de grande importância que a cadeia se organize de maneira profissional e coesa para garantir seu sucesso e sobrevivência. Preocupações que no passado eram inexistentes, passam a atingir certos nichos de mercado e vêm influenciando gradativamente a maneira de produzir (BUTLAND, 2019).

2.2.3 Controle da coccidiose com uso de vacinas

Atualmente uso de vacinas contra coccidiose é considerada uma ferramenta eficaz na estratégia do controle da parasitose na avicultura, uma vez, que a resistência aos medicamentos anticoccidianos aumentou nos últimos anos sem expectativas em relação ao desenvolvimento de novas drogas. Outro ponto de relevância, são as restrições legislativas sobre utilização de medicamentos

na produção, já que os consumidores cada dia mais tem exigido carne livre de produtos químicos (BLAKE e TOMELY, 2014; WITCOMBE e SMITH, 2014b).

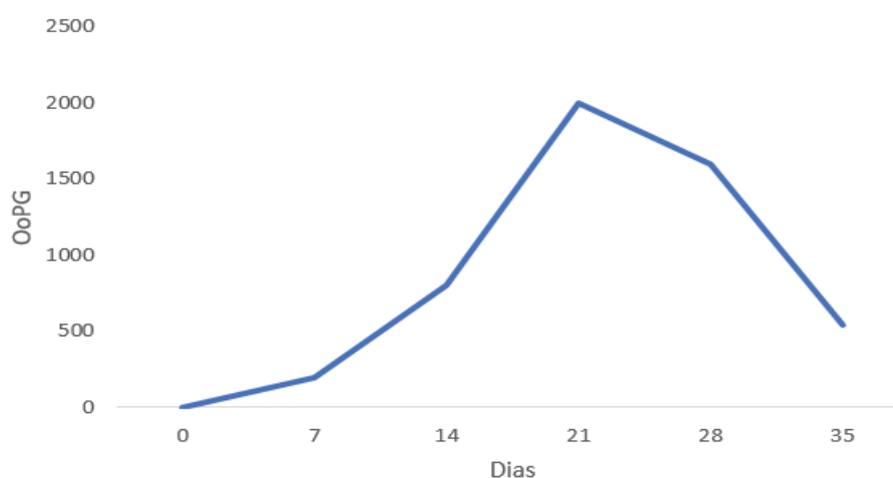
Atualmente estão disponíveis no mercado dois tipos de vacina contra a coccidiose, a vacina atenuada e a não atenuada (virulenta). As vacinas atenuadas são composta por oocistos de *Eimeria spp* imunogênicos que são atenuados por passagens em aves SPF (Specific Pathogen Free) e assim, caracterizados por fornecer imunidade forte e duradoura prevenindo coccidiose clínica e subclínica, favorecendo a saúde intestinal geral e a absorção de nutrientes (Dalloul et al., 2005). E as vacinas não atenuadas, em que o processo de atenuação não é realizado, ou seja, o número de oocistos vacinais ingeridos e a reprodução assexuada e sexuada é intensificada, o que caracteriza esta vacina com alta capacidade de infecção no epitélio intestinal, resultando em impactos diretos no aproveitamento de nutrientes e consequentemente nos resultados zootécnicos (WILLIAMS, 2002).

Dessa forma, a quantidade de oocistos no pico de replicação da cepa de uma vacina atenuada será muito menor do que no pico gerado pelas cepas não atenuadas. Assim, o sucesso das vacinas atenuadas é baseado no fato de um menor risco de ocorrência de doença devido a redução na proliferação dos parasitas e, como consequência, menos danos ao intestino da ave (SHARMAN et al., 2010).

Outro fator de grande importância para escolha de uma vacina anticoccidiana é o grau de atenuação. Um dos métodos de atenuação das espécies de *Eimeria* é a técnica de seleção por precocidade, que permite a obtenção de populações de parasitas que completam seu ciclo de vida até 30 horas mais rápido do que as cepas de campo, resultando em parasitas com uma virulência atenuada e capacidade reprodutiva reduzida (McDONALD e SHIRLEY, 2009; SHIRLEY e BEDRNÍK, 1997; INNES e VERMEULEN, 2006). Fabri et al. (2019) apresenta resultados de frangos de corte que receberam vacina atenuada por precocidade (com mais ou menos 5 passagens de atenuação) e obtiveram melhores resultados de conversão alimentar, ganho de peso diária e menor mortalidade comparado com uma vacina atenuada (1 passagem por atenuação) encontradas no mercado brasileiro.

A última geração de vacinas atenuadas inclui adjuvantes (imunomoduladores) que são capazes de potencializar a imunidade celular específica. Uma estratégia que pode ser utilizada para o desenvolvimento de um modelo ideal de vacina contra coccidiose e assim eliminar os patógenos intracelulares rapidamente. A modulação imunológica é crucial para fornecer uma imunidade forte, rápida e duradoura (DALLOUL, R.A e LILLEHOJ, H.S, 2005). Na figura 4 está apresentado um procedimento vacinal ideal com uso de vacina atenuada por precocidade contra a coccidiose administrada em incubatório. Excreções de oocistos vacinais nas fezes na primeira semana de vida das aves vacinadas e novas ingestões da vacina no ambiente, geram um pico de excreção entre a segunda e a terceira semana de vida, o que determina o estabelecimento completo da imunidade protetora (PRICE et al., 2015).

FIGURA 4: OOPG COM VACINA ATENUADA POR PRECOCIDADE



Fonte: Oliveira, C.B, 2021 (Adaptado de Martina Dardi, 2018)

O uso de vacinas para o controle da coccidiose em frangos de corte ainda é pouco difundido no Brasil e ainda encontra uma série de resistências ao seu uso decorrentes de resultados não satisfatórios em estudos iniciais com o uso de vacinas compostas de cepas selvagens (eimerias não atenuados) que se mostraram ineficientes promovendo uma desconfiança em sua utilização, devido seu perfil extremamente agressivo e efeito deletério aos animais, com lesões significativas na mucosa intestinal e conseqüentemente perda de desempenho zootécnico. Com as experiências passadas e novos estudos, buscando mitigar

tais problemas, as vacinas atuais passaram a trabalhar com cepas atenuadas (FABRI et al., 2019b).

Ronsmans et al. (2015) não encontraram diferenças estatísticas significativas entre os resultados produtivos de lotes com uso de medicamento anticoccidiano comparado com lotes vacinados, demonstrando segurança e efetividade na implantação de um programa vacinal para prevenção da coccidiose.

No caso de frangos de corte, a vacina ideal para induzir imunidade deve incluir *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. praecox* e *E. tenella*. Devido a diferença de imunogenicidade entre elas, é extremamente importante que ocorra a seleção das cepas mais imunogênicas para produção da vacina e assim induzir a imunidade rápida e efetiva para prevenir alto níveis de infecções futuras (CHAPMAN et al., 2013).

Existe correlação direta entre a ingestão de vacina contendo oocistos e intensidade de luz, já que a atividade dos pintinhos é maior em ambiente com alta luminocidade, que resulta conseqüentemente na maior ingestão de vacina (CALDWELL et al., 2001). Geralmente, as vacinas são combinadas com diluentes que possuem um corante específico, para estimular sua ingestão no incubatório. Fischer et al. (1981) relatam que os pintinhos têm preferências por pico de cor nas combinações laranja-vermelho e azul-violeta. Diante dessa constatação, Dardi et al. (2016) avaliaram a preferência das aves através de cores primárias (azul, vermelho e verde) e uma cor secundária (roxo claro), obtida pela mistura das cores vermelho e azul. Roxo claro foi a cor onde os pintinhos de um dia tiveram o maior comportamento de busca pelas gotas vacinais em baixa intensidade de luz no ambiente e, por esta preferência, é uma ótima opção para desenvolvimento de um diluente.

Burne et al. (1996) demonstraram que aves podem responder a odores e que primeiro usam o estímulo visual e depois o estímulo do olfato. Por causa disso, Dardi et al. (2016b) investigaram a possibilidade de introduzir um aromatizador (baunilha) em um diluente para torná-lo mais atraente e eficaz e o resultado foi satisfatório, fato que aumentou o número de eventos de bicagens mesmo em condições de baixa intensidade de luz.

A vacinação de coccidiose em pintinhos de 1 dia de idade no incubatório é uma ferramenta de suma importância para sucesso no controle da coccidiose. Os parasitas do gênero *Eimeria* são altamente imunogênicos, e uma infecção primária induz imunidade para infecções subsequentes. A imunidade conferida pelas vacinas atenuadas é protetora, pois permite o desenvolvimento completo do ciclo do parasito e, conseqüentemente, estimula todas as vias da resposta imune, principalmente a resposta imune celular, a qual promove efetivamente a proteção contra infecções futuras (LILLEHOJ, S.H e LILLEHOJ, P.E, 2000).

A vacinação estimula o sistema imune através dos primeiros estágios do desenvolvimento do parasita, particularmente os esquizontes, e posteriormente é ampliada e mantida por múltiplas reexposições aos oocistos presentes na cama. Assim, a reciclagem da infecção, após a administração de oocistos vivos, é fundamental para a desenvolvimento de imunidade protetora (CHAPMAN e CHERRY, 1997).

No segundo contato com os oocistos vacinais da vacina, as aves já possuem células de memória produzidas da imunidade inata. Desse momento em diante a resposta imunológica é mais rápida, eficiente e duradoura. Dessa forma ocorre aumento de células T CD8+ e T CD4+ no local. As citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16, IL-17, IL-18 entre outras) desencadeiam muitos mecanismos de eliminação do parasita envolvendo inibição do desenvolvimento do parasita intracelularmente, fagocitose e ativação de células T CD8+ que tem efeito citotóxico (MIN et al., 2013).

O período para formação da imunidade celular pode variar de 21 até 35 dias após vacinação (WILLIAMS e GOBBI, 2002). Porém, vacinas atenuadas por precocidade podem induzir pico de replicação da vacina aos 14 dias, dependendo desafio de campo, processo vacinal e condição ambiental (umidade, temperatura e manejos). O processo de vacinação no incubatório deve ser adequado para garantir a ingestão da vacina pelas aves e formação da imunidade completa e precoce.

Doenças imunossupressoras podem interferir no desenvolvimento adequado da imunidade contra *Eimeria* spp. ou até mesmo causar diminuição da imunidade já estabelecida (SHARMA et al., 2000). Enfermidades como a

doença de Marek, Gumboro, e micotoxicoses são consideradas imunossupressoras e favorecem a ocorrência de outras doenças como a coccidiose. Portanto, é necessário estabelecer um programa de vacinação adequado para cada desafio, região e seleção dos ingredientes para prevenir a ocorrência de micotoxinas.

O objetivo de uma vacinação contra coccidiose é prevenir a coccidiose. Todavia, devido a tecnologia de vacinas atenuadas por precocidade a integridade intestinal é mantida e dessa forma, efeito positivo indireto da vacinação contra coccidiose sobre outras doenças pode ser esperado, como redução dos tratamentos com antibióticos usados em relação de doenças entéricas (RONSMANS, 2015).

Além disso, a estratégia do uso de vacina contra coccidiose pode fazer parte do programa de rotação de anticoccidianos, ou seja, ciclos alternados com vacinação e ciclos com programas anticoccidianos. Essa estratégia pode preservar moléculas e restaurar a sensibilidade da população de campo de *Eimeria spp.* aos medicamentos anticoccidianos, como consequência da introdução de cepas vacinais sensíveis nos aviários, principalmente em granjas que persistem o perfil de cepas que apresentam sensibilidade reduzida aos medicamentos disponíveis no mercado. (CHAPMAN e JEFFERS, 2015; PEEK E LANDMAN, 2011b). O aumento na sensibilidade das cepas de *Eimeria* de campo em relação aos anticoccidianos diclazuril e salinomicina podem ser demonstrados após o uso de vacina atenuada (JENKINS et al., 2017).

Em um estudo realizado por Ronsmans et al. (2015), os resultados indicaram que três vacinações consecutivas mudaram o perfil de resistência de *Eimeria spp* que residiam na cama do aviário do estudo e controlaram os problemas de coccidiose em pelo menos dois lotes consecutivos após a vacinação. Posteriormente, os anticoccidianos podem ser empregados como medida efetiva em razão da restauração da sensibilidade dos oocistos repovoados no ambiente. As eimerias resistentes aos anticoccidianos podem aumentar o risco da ocorrência de uma coccidiose subclínica, aumento da disbiose intestinal e de enterites bacterianas (exemplo: enterite necrótica) que resultam em piora nos parâmetros produtivos.

É imprescindível o controle da coccidiose na produção de carne de frango, já que essa enfermidade onera os custos em relação aos prejuízos nos resultados zootécnicos e custo com prevenção e tratamento. Além disso, a resistência aos medicamentos anticoccidianos observada em frangos ao redor do mundo direcionou a busca por novas estratégias de controle. Atualmente estão disponíveis vacinas tecnológicas, práticas, seguras e de última geração com cepas selecionadas geneticamente e atenuadas por precocidade. Com essa ferramenta é claramente possível ter sucesso na prevenção dessa parasitose, mantendo produtividade, rentabilidade e qualidade do produto final.

2.3 Aditivos nutricionais

Um aspecto fundamental em relação a produtividade é a manutenção da saúde e integridade do trato gastrointestinal, já que esta influencia diretamente o estado nutricional, sanitário e imunológico das aves, possibilitando uma melhor eficiência na absorção e metabolização de nutrientes, impedindo a fixação e multiplicação de agentes patogênicos no epitélio intestinal, e estimulam imunidade efetiva.

Há um número de distúrbios associados à saúde intestinal dos frangos de corte, incluindo diarreia, síndrome de má absorção, coccidiose e enterite necrótica (causada por um crescimento excessivo de *Clostridium perfringens* (M'SADEQ et al., 2015).

A doença coccidiose pode apresentar como consequência lesão intestinal causada pela invasão e multiplicação dos estágios do parasita nas células intestinais. O prejuízo no epitélio pode ser maior ou menor dependendo da quantidade de oocistos esporulados ingeridos e do estado imunitário do hospedeiro. O extenso dano provocado por *Eimeria spp* na mucosa intestinal pode apresentar como consequência a diminuição na absorção de nutrientes como zinco, ácido oléico, metionina, histidina, cálcio, glucose e xantofila (BAILEY, 2010).

Dessa forma, pode ocorrer desequilíbrio da microbiota normal, favorecendo a colonização, proliferação e a produção de toxinas pelo *C.perfringens*, causador da enterite necrótica, além da proliferação de

Escherichia coli e *Salmonella spp.* que geram mais danos. A enterite necrótica pode ser observada tanto na forma clínica quanto na subclínica e estima-se que em frangos de corte essa patologia induza uma redução de 12% no ganho de peso e um aumento de 10,9% da conversão alimentar (SKINNER et al., 2010).

Antibióticos promotores de crescimento (AGP) são usados na indústria avícola em baixas doses na ração para promover rápido crescimento, melhorar a conversão alimentar e controlar agentes prejudiciais à integridade intestinal, os quais reduzem o número de microrganismos produtores de toxinas no lúmen intestinal, atuando como agentes anti-inflamatório (BELOTE, 2018). No entanto, AGP será gradualmente restrito ou mesmo proibido por causa da crescente preocupação com resíduos de drogas e bactérias resistentes (YANG et al., 2020).

A União Europeia proibiu o uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal em 2006 (CASTANON, 2007). Diante disso, a indústria avícola, impulsionou pesquisas para desenvolver alternativas aos antibióticos. Assim, os aditivos nutricionais têm recebido atenção especial na avicultura como ferramenta para melhorar o desempenho zootécnico e solução aos medicamentos antimicrobianos.

Entre os aditivos do mercado, os ácidos orgânicos possuem potencial de controlar ou minimizar perdas de desempenho zootécnicos (ADIL et al., 2010) e manter a integridade intestinal em frangos de corte em condições sem quimioterápicos. São produtos naturais, seguros, que não deixam resíduos e por não requerer período de carência podem ser mantidos até o final do ciclo de criação das aves.

Os ácidos orgânicos com 1 a 6 carbonos são classificados como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e os mais abundantes no trato gastrointestinal são acetato, propionato e butirato (BEDFORD et al., 2017). Entre eles, o ácido butírico fornecido sinteticamente para aves pode ser uma fonte de energia para células intestinais, influenciar positivamente na proliferação, diferenciação e maturação de células intestinais, e pode alterar positivamente a barreira intestinal, entre outras funções (ONRUST et al., 2015). Outra vantagem é a capacidade de regular a produção de citocinas pró-inflamatórias como linfócitos

e macrófagos na mucosa intestinal, modulando assim o sistema imunológico (GUILLOTEAU et al., 2010).

O butirato, possui atividade antimicrobiana, selecionando o crescimento de espécies de bactérias benéficas e controlando as nocivas como *Salmonella spp.*, *E.coli* e *Campylobacter jejuni* do trato digestivo das aves, devido à capacidade de baixar o pH da moela (VAN DEUN et al., 2008).

O pH ácido do proventrículo e moela permitem que o ácido butírico permaneça em sua forma não dissociada. Ao entrar no intestino delgado proximal, é dissociado em butirato e íons de hidrogênio, assim é absorvido pelos enterócitos via difusão passiva para auxiliar a renovação das células e aumentar o comprimento das vilosidades (AHSAN et al., 2016).

Na fase inicial, ocorrem as maiores mudanças no desenvolvimento do trato gastrointestinal das aves, sendo que vilosidades, número de enterócitos, profundidade das criptas e microflora aumentam significativamente. O ácido butírico, apresenta influência benéfica sobre crescimento das células da mucosa intestinal, aumento da atividade enzimática, facilitando a absorção de nutrientes, prevenção e regeneração de lesões epiteliais (SANFELICE, 2016).

Imran et al. (2018) observaram efeito significativo na altura de vilosidades de aves alimentadas com ácido butírico. A altura das vilosidades determina a maturidade funcional dos enterócitos que chegam ao ápice das vilosidades. Quando as vilosidades se apresentam mais curtas, os enterócitos atingem o ápice mais rápido, quando sua capacidade secretora de enzimas é pouco desenvolvida, ocasionando uma menor eficiência na absorção de nutrientes (BROOM, 2015).

Já os ácidos orgânicos que possuem entre 7 e 12 carbonos, são classificados como ácidos graxos de cadeia média (AGCM). Entre eles, o ácido láurico é usado na avicultura em substituição a antibiótico por possuir efeito positivo sobre a saúde intestinal e o desempenho produtivo de frangos de corte, devido a sua grande ação anti-inflamatória, propriedades antimicrobianas e estabilização da microbiota.

De acordo com Vieira (2011) os AGCM possuem potente ação sobre bactérias patogênicas como é o caso de *E.coli*, *C.perfringens*, *Salmonella spp.* Inicialmente desestabilizam e acidificam a membrana celular da bactéria o que

possibilita a sua entrada na forma não dissociada. O desequilíbrio de pH (acidificação) faz com que a bactéria tente manter o pH em um nível adequado e com isso, consome muita energia e é levada a morte. Além disso, os AGCM interferem na replicação do DNA impedindo a multiplicação das bactérias. Outro ponto importante é que os AGCM inibem a produção de lipase microbiana, necessária para a fixação, por exemplo, do *C.perfringens* nas paredes do trato digestório reduzindo a pressão de infecção.

Quanto à imunidade, já foi evidenciado que o uso de AGCM além de reduzir os quadros de inflamações, melhora a qualidade dos neutrófilos. O neutrófilo sadio é a primeira defesa do organismo contra inflamações provocadas por bactérias patogênicas (VIEIRA, 2011b).

A associação de aditivos nutricionais como ácido butírico e láurico com programas de controle de coccidiose podem ter um efeito sinérgico em relação a melhoria da qualidade intestinal e controle de possíveis infecções oportunistas desencadeadas pela infecção de coccidiose em frangos de corte. Pantoja et al., (2020) avaliou aves vacinadas com cepas atenuadas por precocidade e desafiadas e comparou a associação com dietas suplementadas com AGCC e AGCM e concluiu a suplementação com ácidos orgânicos das aves vacinadas reduziu ainda mais as lesões intestinais causadas pelo desafio de enterite necrótica.

Portanto, a suplementação de aditivos alternativos como ácidos orgânicos possuem efeitos benéficos que podem auxiliar a integridade intestinal, reduzir invasão de bactérias patogênicas e maximizar o desempenho de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

ADIL, S.; BANDAY, G.A.; BHAT, M.S.; MIR, E.; REHMAN. M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler. **Vetetary Medicine International**. Artigo ID 479485, 2010.

AHSAN, U.; CENGIZ, O.; RAZA, I.; KUTER, E.; CHACHER, M.F.A.; IQBAL, Z.; UMAR, S.; ÇAKIR, S. Sodium butyrate in chicken nutrition: the dynamics of performance, gut microbiota, gut morphology, and immunity. **World's Poultry Science Journal**. v.72, n.2, p.265-275, 2016.

ASSIS, R.C.L.; LUNS, F.D.; CURY, M.C. Desinfecção com amônia quaternária associada à fermentação não potencializa o controle de coccidiose em cama de frango. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.43, n.8, p.1459-1463, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Proteína Animal: ABPA divulga perspectivas para 2021**. Disponível em: <<https://abpa-br.org/perspectivas-para-2021/>>. Acesso em: 20 janeiro 2021.

BACK, A. Coccidiose aviária. **Manual de Doenças das aves**, 3ª edição. Capítulo 70, p. 276.

BAILEY, R.A. Intestinal microbiota and the pathogenesis of dysbacteriosis in broiler chickens. **The University of East Anglia. Norfolk, UK**, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Richard-Bailey9/publication/318596419_Intestinal_microbiota_and_the_pathogenesis_of_dysbacteriosis_in_broiler_chickens/links/59720dfea6fdcc83487c3017/Intestinalmicrobiota-and-the-pathogenesis-of-dysbacteriosis-in-broiler-chickens.pdf>. Acesso em: 29 março 2021.

BEDFORD, A.; YU, H.; SQUIRES, J.E.; LEESON, S.; GONG, J. Metabolism and nutrition: Effects of supplementation level and feeding schedule of butyrate glycerides on the growth performance and carcass composition of broiler chickens. **Poultry Science**. v.96, p.3221–3228, 2017.

BEERS, K.W.; RAUP, T.J.; BOTTJE, W.G. Physiological responses of heat stress broilers fed nicarbazin. **Poultry Science**. v.68, p. 428-434, 1989.

BELLI, S.I.; SMITH, N.C.; FERGUSON, D.J. The coccidian oocyst: a tough nut to crack. **Trends in Parasitology**.v.22, n.9, p.416–423, 2006.

BELOTE, B.L. Histological parameters to evaluate intestinal health on broilers challenged with Eimeria and Clostridium perfringens with or without enramycin as growth promoter. **Poultry Science**. v.97, n. 7, p.287-2294, 2018.

BLAKE, D.P.; KNOX, J.; DEHAECK, B.; HUNTINGTON, B.; RATHINAM, T.; RAVIPATI, V.; AYOADE, S.; GILBERT, W.; ADEBAMBO, O.A.; JATAU, D.I.; RAMAN, M.; PARKER, D.; RUSHTON, J.; TOMLEY, M.F. Re calculating the cost of coccidiosis in chickens. **Veterinary Research**. v.51, p.115, 2020.

BLAKE, P.D.; TOMLEY, M.F. Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. **Trends Parasitology**. v.30, n.1, p.9-12, 2014.

BRASIL, 2017.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013**, 29 de março de 2017.

BROOM, L. J. Organic acids for improving intestinal health of poultry. **World's Poultry Science Journal**. v. 71, n. 4, p. 630-642, 2015.

BURNE, T.H.J.; ROGERS, L.J. Responses to Odorants by the Domestic Chick. **Physiology and Behavior**. v.60, n. 6, p. 1441-1447, 1996.

BUTLAND, G. Tendências na avicultura mundial desde o consumidor até o comercio global. **20º Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, 2019.

CALDWELL, D.Y.; YOUNG, D.S.; CALDWELL, D.J.; MOORE, R.W.; HARGIS, B.M. Interaction of color and photointensity on preening behavior and ingestion of spray-applied biologics. **Poultry Science**. v.10, n. 2, p.112-116, 2001.

CASTANEDA, Q.E.R.; GONZÁLEZ, D.E.Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. **BioMed Research International**. Article ID 430610, 2015.

CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poutry feeds. **Poultry Science**. v.86, n.11, p. 2466-2471, 2007.

CHAPMAN, H. D. A. landmark contribution to poultry science – Prophylactic control of coccidiosis in poultry. **Poultry Science**. v. 88, n. 4, p. 813-815, 2009.

CHAPMAN, H.D. Anticoccidial agents for poultry. In: Aditivos na produção de ruminantes, aditivos na produção de não ruminantes e fronteiras do melhoramento genético animal. **Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**. v.35. p. 219-236, 1998 .

CHAPMAN, H.D.; CHERRY. T.E. Comparison of two methods of administering live coccidiosis vaccines to newly hatched chicks: infectivity and development of immunity to *Eimeria* species. In: SHIRLEY, M.W., TOMLEY, F.M., FREEMAN, B.M. **Control of Coccidiosis into the Next Millennium**. Compton, Newbury: **International Coccidiosis Conference**. v.7,p.133, 1997.

CHAPMAN, H.D. Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. **Avian Pathology**. v 26, n.2, p.221-244,1997.

CHAPMAN, H.D.; BARTA, R.J.; BLAKE, D.; GRUBER, A.; JENKINS, M.; SMITH, C.N.; SUO, X.; TOMLEY, M.F. A Selective Review of Advances in Coccidiosis Research. **Advances in Parasitology**. v.83, p.93–171, 2013.

CHAPMAN, H.D.; JEFFERS, T.K. Restoration of sensitivity to salinomycin in *Eimeria* following 5 flocks of broiler chickens reared in floor in floor-pens using drug programs and vaccination to control coccidiosis. **Poultry Science**. v.94,943-946, 2015.

CHAPMAN, H. D.; JEFFERS, T.K.; WILLIAMS, R.B., Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. **Poultry Science**. v. 89, p.1788–1801, 2010.

CONWAY,

A. **Disease, antibiotics top list of 2018 broiler industry concerns**. Disponível em <<https://www.wattagnet.com/articles/35814-disease-antibiotics-top-list-of-2018-broilerindustry-concerns?v=preview>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2021.

CONWAY, D.O. MCKENZIE, M.E. **Poultry coccidiosis: diagnostic and testing procedures**. 3rd ed, p.8-11, 2007.

COSTA, C. A. F.; ÁVILA, V. S. 2003. Efeito da idade das aves e da reutilização e manejo da cama de aviário sobre a coccidiose em frangos de corte. **Embrapa CNPSA**. Disponível em:<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58257/1/CUsersPiazzonDocuments327>>. Acesso em: 12 de dezembro de 2020.

COUNCIL DIRECTIVE OF 2011/50/EU OF THE EUROPEAN COUNCIL. **Official Journal of the European Union 2011**. Disponível em: <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011L0050>. Acesso em: 22 de junho de 2021.

DAKPOGAN, B.H.; SALIFOU, S.; MENSAH, A.G.; GBANGBOTCHE, A.; YOUSDAO, I.; NACIRI, M. Problem of the control and prevention of coccidiosis in chickens. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**. v.6,n.6, p.6088–6105, 2012.

DALLOUL, R.A.; LILLEHOJ, H.S. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. **Avian diseases**.v.49, n.1, p.1-8, 2005.

DARDI, M. Can we enhance pecking and preening for oocyst ingestion in coarse spray vaccination against coccidiosis? **Eimeria prevention**. 2016. Disponível em:<<https://eimeriaprevention.com/enhancing-pecking-and-preening-for-oocyst-ingestion-in-coarse-spray-vaccination-against-coccidiosis/>>. Acesso em: 13 de janeiro de 2021.

DINIZ, T.; MELLO, J.L.M.; SALCEDO, Y.T.G. Temperatura do ambiente e reutilização da cama no desempenho e qualidade da carne de frango. **Ciência & Tecnologia: FATEC- Jaboticabal (SP)**, v.7, n.1, p.47-62, 2015.

EFSA (European Food Safety Authority) Safety and efficacy of Coxar® (nicarbazin) for turkeys for fattening. **The EFSA Journal**. v.16, n.4, 2018.

EI-DAKHLY, K. H. M. et al. In vitro study of disinfectants on the embryonation and survival of *Toxascaris leonina* eggs. **Journal of Helminthology**. v. 92, n. 5, p. 530-534. 2018.

FABRI, F.; CANTADOR, F.; OLIVEIRA, C.B.; SASS, N.; KOLLMANN, J.; MARQUES, R.; DARDI, M.; SOARES, L.; PANTOJA, L. Reviewing coccidiosis control concepts with the use of live attenuated vaccines and increasing profitability with sustainability: Results on farms in Brazil. **AVINEWS BRASIL**. 2020. Disponível em: <<https://avicultura.info/pt-br/controla-da-coccidiose-com-vacina-viva-atenuada/>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2021.

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

FISCHER, G.F.; DAVIS, J.S. Brightness effects on color pecking preferences in dark-hatched domestic chicks. **Developmental Psychobiology**. v.14, n.3, p.237-249, 1981.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**, 4.ed., 2004.

FRANCO, J.R.G.; MURAKAMI, E.A.; SAKAMOTO, I.M.; MARTINS, N.E.; MOREIRA, I.; PEREIRA, S.A.M. Efeito dos ionóforos e do balanço eletrolítico da dieta sobre o desempenho e a incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte na fase inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.33, n.1, p.135-145, 2004.

GARCIA, R. G.; PAZ, I. C. D. L. A.; CALDARA, F. R.; NAAS, I. A.; FREITAS, L. W.; BORILLE, R.; SPINDOLA, N. F. Alternativas para a composição de cama de frango. **Revista Agrarian**. v.6, n.19, p.81-89, 2013.

GAZONI, F.; MATTE, F.; CHIARELLI, A.F.; ANTONISE, J.M.; GUILLERMO, I.T.; SCHAFER, S.A. Coccidiosis in commercial broilers in Brazil between 2012 and 2019: main species and degrees of injury. **Abanico Veterinario**. v.11, p.1-10, 2021.

GONZALES, E. Aditivos Para Rações de Aves e Suínos. **Apostila- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ-UNESP**, 2001.

GUILLOTEAU, P.; G. SAVARY, Y.; JAQUELIN-PEYRAULT, V.; ROMA, L.; ZABIELSKI, R. Suplemento de butirato de sódio na dieta aumenta a digestibilidade e a secreção pancreática. **Jornal of Dairy Sciency**. v.93, p. 5842–5850, 2010.

GUIMARÃES, J.S.; BOGADO, G.L.A.; CUNHA, B.C.T.G.; GARCIA, L.J. In vitro evaluation of the disinfection efficiency on *Eimeria tenella* unsporulated

oocysts isolated from broilers. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**. v.16, n.2, p.67-71, 2007.

HANSEN, M.; KROGH, K.A.; BRANDT, A.; CHRISTENSEN, J.H.; HALLING-SORENSEN, B. Fate and antibacterial potency of anticoccidial drugs and their main abiotic degradation products. **Environmental Pollution**. v.157, p.474–480, 2009.

IMRAN, M.; AHMED, S.; DITTA, Y.A.; MEHMOOD, S.; RASOOL, Z.; ZIA, M.W. Effects of microencapsulated butyric acid supplementation on growth performance and ileal digestibility of protein, gut health and immunity in broilers. **Indian Journal of Animal Research**. v. 52, n. 11, 2018.

INNES, A.E.; VERMEULEN, N.A. **Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites Eimeria, Toxoplasma and Neospora Parasitology** v.133, p.145–168, 2006.

JEFFERS T.K.; TONKINSON L.V.; CALLENDER M.E. Anticoccidial efficacy of narasin in battery cage trials. **Poultry Science**. v.67, n.7, p.1043–1049, 1988.

JENKINS, C.M.; PARKER, C.; RITTER, D. Eimeria oocyst concentrations and species composition in litter from commercial broiler farms during anticoccidial drug or live eimeria oocyst vaccine control programs. **Avian Diseases**. v.61, n.2, p.214-220, 2017.

JOHNSON, J.; REID, M. Anticoccidial drugs lesion scorings techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. **Experimental parasitology**. v.28, p.30-36,1970.

KORVER, D. Energetic Costs of Coccidial Infection and Vaccination. **20º Simpósio Brasil Sul de Avicultura. Anais** p. 97–100, 2019.

KOSKI, P.; KUUSELA, A. J. Matança de *Gyrodactylus salaris* por calor e desinfecção química. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 58, n. 21, p. 1-6. 2016.

LANCINI, B.J. Coccidiose: o que é, alternativas de controle e prevenção. **Revista o presente Rural**. Disponível em: <<https://opresenterural.com.br/coccidiose-o-que-e-alternativas-de-controle-e-prevencao/>>. Acesso em: 08 fevereiro de 2021.

LILLEHOJ, H.S.; LILLEHOJ, E.P. Avian coccidiosis: A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. **Avian diseases**. v.44, n.2, p.408-25, 2000.

LIMA, L.A.; BARRETO, F.; RAU, B.A.R.; RESENDE, G.S.; LARA, C.J.L.; FIGUEIREDO, C.T.; ASSIS, S.C.D.; CANÇEADO, V.S. Determination of the residue levels of nicarbazin and combination nicarbazin-narasin in broiler chickens after oral administration. **Plos one**. v.12, n.7, 2017.

LONG, P. L.; W. M. REID, W.M. A guide for the diagnosis of coccidiosis in chickens. **Research Report 404 (Report 355 revised)**. College of Agriculture Experiment Station, Universidade Georgia, 1982.

MACDOUGALD, R.L.; FITZ-COY, S.H. Coccidiosis. **Poultry Disease**. John Wiley and Sons, 2013.

McDONALD, V.; SHIRLEY, M.W. Past and future: vaccination against Eimeria, **Parasitology**. v. 136, p. 1477–1489, 2009.

MARIEN, M.; DE GUSSEM M.; VANCRAEYNEST D.; FORT G.; NACIRI M. Indication of cross-resistance between different monovalent ionophores as determined by an anticoccidial sensitivity test (AST). **16th European Symposium on Poultry Nutrition**. Corpus ID: 53321917, 2007.

MIN, W.; KIM, W.H.; LILLEHOJ, E.P.; LILLEHOJ, S.H. Recent progress in host immunity to avian coccidiosis: IL-17 family cytokines as sentinels of the intestinal mucosa. **Developmental and Comparative Immunology**. v.41, p.418–428, 2013.

MORAES J.C.; FRANÇA, M.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; MOURA A.B.; MAGALHÃES, M.D.L.B.; MILETTI, L.C. Prevalence of Eimeria spp. in broilers by multiplex PCR in the Southern region of Brazil on two hundred and fifty farms. **Avian Diseases**. v.59, n.2, p.277-281, 2015.

MOURA, J. **Aditivos que substituem o uso de antimicrobianos?** 2021. Disponível em: <https://nutricaoesaudeanimal.com.br/antimicrobianos/>. Acesso em: 14 de julho de 2021.

M'SADEQ, S.A.; WU, S.; SWICK, R.; CHOCT, M. Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide. **Animal Nutrition**. v.1, p.1-11, 2015.

NILSSON, O.; GREKO, C.; BENGTSSON, B.; ENGLUND, S. Genetic diversity among vre isolates from Swedish broilers with the coincidental finding of transferrable decreased susceptibility to narasin. **Journal of Applied Microbiology**. v.112, p.716–22, 2012.

NOIROT, V. Using plant extracts as alternatives in fighting coccidiosis. **Poultry International**. v. 9, p. 22-25, 2010.

ONRUST, L.; DUCATELLE, R.; VAN DRIESSCHE, K.; DE MAESSCHALCK, K.; VERMEULEN, F.; HAESBROUCK, V. Steering endogenous butyrate production in the intestinal tract of broilers as a tool to improve gut health. **Front. Vet. Sci**. v.2, p.75, 2015.

QUIROZ-CASTAÑEDA, R. E.; DANTÁN-GONZÁLEZ, E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. **BioMed research**

international. v. 2015, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/430610>. Acesso em: 16 de janeiro de 2021.

PANTOJA, L.; DARDI, M.; ELLEN VAN EERDEN, V.E. Uma vacina atenuada contra a coccidiose pode proteger os frangos de corte submetidos a um desafio de enterite necrótica. **Nutrnews Brasil**. Disponível em: <https://nutrnewsbrasil.com/vacina-atenuada-contra-a-coccidiose-pode-protger-os-frangos-de-corte-submetidos-a-um-desafio-de-enterite-necrotica-2/>. Acesso em: 12 de janeiro de 2021.

PEEK, W.H.; LANDMAN, M.J.W. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. **Veterinary Quarterly**. v. 31, n.3, p.143, 2011.

PIETRUK, K.; OLEJNIK, M.; JEDZINIAK, P. Determination of fifteen coccidiostats in feed at carry-over levels using liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. v.112, p.50-59, 2015.

PLANALQUÍMICA - Anticoccidianos. In: Simpósio internacional sobre coccidiose, 1994, Santos, SP. **Anais. FACTA**, 1994. p.159-166.

PRICE, K.R.; REEMAN, M.; VAN-HEERDEN K.; BARTA J.R. Shedding of live Eimeria vaccine progeny is delayed in chicks with delayed access to feed after vaccination. **Veterinary Parasitol**. v. 208, n.3-4, p. 242-245, 2015.

RAMOS, N.S.L.; LOPES, B.J.; SILVA, S.M.M.S.; SILVA, S.E.F.; RIBEIRO, N.M. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.40, n.8, p.1738-1744, 2011.

RAZMI, G.R.; KALIDERI, G.A. Prevalence of subclinical coccidiosis in broiler chicken farms in the municipality of Mashhad, Khorasan, Iran. **Preventive veterinary medicine**. v.44, p.247-253, 2000.

RÉPÉRANT, M.J.; DARDI M.; PAGÈS M.; HÉNAFF T.M. Pathogenicity of Eimeria praecox alone or associated with Eimeria acervulina in experimentally infected broiler chickens. **Veterinary Parasitology**. v.187, p. 333-336, 2012.

ROCHA, T. P. **Principais pontos para a implementação de um programa anticoccidiano**, 2019. Disponível em: <https://aviaxplus.com.br/artigos/>. Acesso em: 26 de janeiro de 2021.

RONSMANS, S.; FLAMENT A.; VAN ERUM, J.; DARDI, M.; RUBIO J. Reduction of antibiotic treatments in broilers by the use of a live Coccidiosis vaccine in rotation with anticoccidial feed additives: Results from the Belgian field

Proceedings of the XIX World Veterinary Poultry Association Congress. p. 876-880, 2015.

RONSMANS, S.; VAN ERUM J.; DARDI, M. The use of a live coccidiosis vaccine in rotation with anticoccidial feed additives: Results from the belgian field. **Proceedings of the xix world veterinary poultry association congress**. p.158, 2015.

ROSE, M.E.; LONG, P.L. Vaccination against coccidiosis in chickens. **Symposio of the british society for parasitology blackwell scientific, Oxford**. v.18, p. 57–74, 1980.

RYLEY, J.F. Drug resistance in coccidian. **Advances in Veterinary Science and comparative medicine**. v.24, p.99-120.1980.

SANFELICE, C. Benefícios do ácido butírico na nutrição de aves. **Avicultura industrial**, 2016. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/impressao/beneficios-do-acido-butirico-na-nutricao-de-aves-por-cristiane-sanfelice/20161021-091249-g653>>. Acesso em: 20 de março de 2021.

SANTIN, E. Conhecimentos imunológicos da interação entre hospedeiro e patógeno na coccidiose aviária - o papel da imunidade. **Material técnico: Traçando um novo caminho na imunologia da coccidiose aviária**. Radisson Montevideo Victoria Plaza – Uruguai. p.6-9, 2017.

SANTOS, M. J. B.; SAMAY, A. M. A. T.; SILVA, D. A. T.; RABELLO, C. B.-V.; TORRES, T. R.; SANTOS, P. A.; CAMELO, L. C. L. Manejo e tratamento de cama durante a criação de aves. **Revista Eletrônica Nutritime**. v.9, n. 3, p.1801-1815, 2012.

SHAH, D.H. Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated Salmonella serotypes. **Poultry Science**. v. 96, n. 3, p. 687- 702, 2017.

SHARMA, J.M.; KIM, I.J.; RAUTENSCHLEIN, S.; YEH, H.Y. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. **Developmental and Comparative Immunology**. v. 24, p.223-35, 2000.

SHARMAN, P.A.; SMITH, C.N.; WALLACH, G.M.; KATRIB, M. Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. **Parasite Immunology**. v. 32, p.590–598, 2010.

SHIRZAD, M.R.; SEIFI, S.; GHEISARI, H.R.; HACHESOO, B.A.; HABIBI, H.; BUJMEHRANI, H. Prevalence and risk factors for subclinical coccidiosis in broiler chicken farms in Mazandaran province Iran. **Tropical Animal Health and Production**. v.43, n.8, p.1601-1604, 2011.

SHIRLEY, M.W.; BEDRNÍK, P. Live attenuated vaccines against Avian coccidiosis: success with precocious and egg-adapted lines of Eimeria. **Parasitology Today**. v. 13, p. 481–484, 1997.

SHIVARAMAIAH, C.; BARTA R.J.; HERNANDEZ, V.X, TELLEZ, G.; HARGIS, B.M. Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of Eimeria species,

preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. **Veterinary Medicine**. v.5, p.23-34. 2014.

SILVA, S.V.; VOSS, D.; COLDEBELLA, A.; BOSETTI, N.; AVILA, S.V.; Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte. **Comunicado técnico 467**. Versão eletrônica - ISSN 0100-8862, 2007.

SKINNER, T.J.; BAUER, S.; YOUNG, V.; PAULING, G.; WILSON, J. An economic analysis of the impact of subclinical (mild) necrotic enteritis in broiler chickens. **Avian Diseases**. v.54, n.4, p.1237-1240, 2010.

SOAVE, L.G Anticoccidianos em rações. **Artigo 128 (Nutritime)**. v.8. n.1, 2011.

VAN DEUN, K.; HAESBROUCK, F.; VAN IMMERSEEL, F.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F. Short chain fatty acids and L-lactate as feed additives to control *Campylobacter jejuni* infections in broilers. **Avian Pathology**. v.37, p.379-383, 2008.

VERMEULEN, A.N.; SCHAAP, D.C.; SCHETTERS, T.H.P.M. Control of coccidiosis in chickens by vaccination. **Veterinary Parasitology**. v.100, p.13-20, 2001.

VIEIRA, S.N. Ácidos Graxos de Cadeia Média (AGCM) na Produção Animal. **Ergomix**. Disponível em: <<https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/acidos-graxos-producao-animal-t37386.htm>>. Acesso em: 18 de dezembro de 2020.

WIERNUZ, C.J.; TEETER, R.G. Nicarbazin effects on broiler thermobalance during high ambient temperature stress. **Poultry Science**. v.74, p. 577-580, 1995.

WILLIAMS, B.R.; L. GOBBI, L. Comparison of an attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial drug programme in commercial broiler chickens in Italy. **Avian Pathology**. v.31, n.3, p. 253-265, 2002.

WITCOMBE, D.M.; SMITH, N.C. Strategies for anti-coccidial prophylaxis. **Parasitology**. n.141, 1379-1389, 2014.

YAN, L.; XING, Y K.; WANG, Y Z.; CHOCT, B.; GUO, Z.M.; ZHOU, G. L. Effects of rearing system and narasin on growth performance, gastrointestinal development, and gut microbiota of broilers. **Poultry Science**. v. 100, n. 3, 100: 100840840, 2020.

YANG, X.; LIANG, S.; FANGSHEN, G.; REN, Z.; YANG, X.; LONGY, F. Immunology, health and disease: Gut microbiota mediates the protective role of *Lactobacillus plantarum* in ameliorating deoxynivalenol induced apoptosis and intestinal inflammation of broiler chickens. **Poultry Science**. v.99, p.2395-2406, 2020.

YODER, C.A.; MILLER, C.A; BYNUM, K.S. Comparison of nicarbazin absorption in chickens, mallards, and Canada geese. **Poultry Science**. v.84, p.1491-1494, 2005.

ZIDAR, P.; ŽIŽEK, S. The impact of coccidiostats monensin and lasalocid on Cd and Pb uptake in the isopod *Porcellio scaber*. **Applied Soil Ecology**. v. 55, p.36-43, 2012.

WILLIAMS, R.B. Vacinas anticoccidianas para frangos de corte: caminho para o sucesso . **Avian Pathol** . v.31, p.317 - 353 , 2002.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de uma vacina atenuada por precocidade como alternativa aos produtos anticoccidianos utilizados no controle da coccidiose, associado a suplementação com aditivo nutricional, sobre o desempenho produtivo e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da vacinação de coccidiose em frangos de corte desafiados, suplementadas com um aditivo nutricional sobre:

- Desempenho produtivo;
- Morfometria intestinal;
- Tensão de ruptura, distância e dureza da mucosa intestinal do íleo;
- Oxidação lipídica intestinal (TBARS);
- Capacidade antioxidante sérica DPPH, ABTS;
- Permeabilidade da mucosa intestinal através de níveis séricos de FITC-d;
- Avaliação da atividade proliferativa das células intestinais do jejuno por imunohistoquímica (contagem de células em mitose);
- Escore de lesões (intestino superior, médio e inferior e ceco);
- Coloração de pés e pele do peito;
- Número de oocistoas por grama (OoPG);

CAPÍTULO 1: EFEITO DO USO DE UMA VACINA ATENUADA POR PRECOCIDADE COMO ALTERNATIVA NO CONTROLE DA COCCIDIOSE, ASSOCIADO A SUPLEMENTAÇÃO DE UM ADITIVO NUTRICIONAL, SOBRE DESEMPENHO PRODUTIVO E A SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de uma vacina atenuada por precocidade como alternativa as drogas anticoccidianas utilizadas no controle da coccidiose, associado a um aditivo nutricional na dieta, sobre o desempenho produtivo e a saúde intestinal de frangos de corte desafiados. Foram utilizados 672 pintinhos machos, da linhagem Ross, provenientes de matrizes de cerca de 40 semanas de idade. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2 (4 programas de controle vs 2 condições sanitárias) totalizando 8 tratamentos com 6 repetições de 14 aves cada. Os resultados obtidos no experimento foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) e quando significativas, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey. As aves que foram desafiadas apresentaram menores ($P < 0,05$) resultados de desempenho produtivo independente dos tratamentos, demonstrando similaridade na efetividade de ambos os programas anticoccidianos. A associação de vacina e aditivo melhorou ($P < 0,05$) a conversão alimentar entre 21 e 28 dias. Para morfometria do duodeno, houve menor ($P < 0,05$) relação vilo:cripta aos 19 dias e área de absorção aos 28 dias para grupo desafiado. No desdobramento da interação, o programa anticoccidiano acrescido de aditivo resultou em menor ($P < 0,05$) espessura da camada muscular do grupo desafiado. No jejuno, aves vacinadas demonstraram maior ($P < 0,05$) largura de vilo e o programa anticoccidiano maior ($P < 0,05$) área de absorção aos 19 dias. No desdobramento da interação, a associação de aditivo e vacina melhorou ($P < 0,05$) a profundidade de cripta e o programa vacina resultou em menor ($P < 0,05$) relação vilo:cripta para aves desafiadas. Aos 28 dias, o programa vacina apresentou maior ($P < 0,05$) comprimento do vilo e profundidade de cripta, o que demonstra maior resposta regenerativa do jejuno. No íleo, a associação de vacina e aditivo apresentou maior ($P < 0,05$) largura de vilo aos 19 dias e o programa anticoccidiano acrescido de aditivo apresentou menor ($P < 0,05$) profundidade de cripta e maior área de absorção aos 28 dias, porém não apresentou melhores valores que o programa vacina acrescido de aditivo. Aves desafiadas apresentaram maior ($P < 0,05$) distância de deslocamento do probe aos 19 dias, ou seja, característica mais elástica, pois no momento da cicatrização do tecido lesionado é utilizado colágeno. Não houve ($P > 0,05$) efeito significativo para oxidação lipídica, contagem de células em mitose na cripta da mucosa do jejuno em relação aos programas de controle e as condições sanitárias avaliadas. O programa vacina anticoccidiana acrescido de aditivo apresentou maior ($P < 0,05$) capacidade antioxidante sérica de DPPH aos 19 dias. O grupo vacinado demonstrou o maior nível de ABTS aos 19 dias, impactando positivamente na capacidade de proteção antioxidante. Os níveis séricos de FITC-d foram menores ($P < 0,05$) para grupo desafiado. No desdobramento da interação dos fatores para o valor b^* mensurado na pele do peito das aves, observou-se maior ($P < 0,05$) valor quando foi adicionado o aditivo nutricional ao programa vacina. Aves vacinadas demonstraram menor escore de lesão para *E. tenella* aos 19 dias. O programa vacina associado ao aditivo, resultou em maior ($P < 0,05$) coloração de pés para grupo controle aos 19 dias comparado com o programa anticoccidiano na ausência de aditivo. O comportamento de excreção de oocistos das aves vacinadas demonstrou formação de imunidade e ambos os programas anticoccidianos foram efetivos para controle da coccidiose. O controle da coccidiose em frangos de corte com uso de vacina atenuada por precocidade pode ser uma alternativa eficaz e segura e capaz de proporcionar desempenho zootécnico semelhante àquele obtido com o programa anticoccidiano em situações de desafio ou não. O uso de um aditivo nutricional com ácidos graxos de cadeia curta e média pode ser usado em associação com programa anticoccidiano para potencializar os resultados.

Palavras-chave: Controle coccidiose, vacinas atenuadas, aditivo nutricional, saúde intestinal, frango de corte

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effectiveness of a precocity attenuated vaccine as an alternative to anticoccidial drugs used to control coccidiosis, associated with a nutritional additive in the diet, on the productive performance and the intestinal health of challenged broilers. For the accomplishment of this study 672 male chicks of the Cobb Slow line with from dams around 40 weeks old. The birds were distributed in a completely randomized design in a 4 x 2 factorial scheme (4 control programs versus 2 sanitary conditions) resulting in 8 treatments and 6 replicates of 14 birds per box. The results obtained in the experiment were analyzed using analysis of variance (ANOVA) of the General Lineal Model (GLM) procedure with the aid of the statistical program SAS (Statistical Analysis System) and when significant, the means between treatments were compared by Tukey test. The birds that were challenged had smaller ($P < 0,05$) performance results regardless of the of treatments, demonstrating similarity in the effectiveness of the both anticoccidial programs. The association of vaccine and additive improved ($P < 0,05$) feed conversion between 21 and 28 days. For duodenum morphometry, there was smaller ($P < 0,05$) villus:crypt ratio at 19 days and absorption area at 28 days for the challenged group. In the unfolding of the interaction, the anticoccidial program with the addition of additive resulted in smaller ($P < 0,05$) muscle layer thickness in the challenged group. In the jejunum, vaccinated birds demonstrated greater ($P < 0,05$) villi width and the anticoccidial program greater area of absorption at 19 days. In the unfolding of the interaction, the association of vaccine and additive improved ($P < 0,05$) depth of the crypt and the vaccine program resulted in smaller ($P < 0,05$) villo:crypt ratio for challenged birds. At 28 days, the vaccine program presented greater ($P < 0,05$) villus length and crypt depth, which demonstrates higher jejunum regenerative response. In the ileus, the association of vaccine and additive showed greater ($P < 0,05$) villi width at 19 days and the anticoccidial program with the addition of additive presented smaller ($P < 0,05$) crypt depth and greater area of absorption at 28 days, however it did not show better values than the vaccine program plus an additive. Challenged birds had a greater ($P < 0,05$) probe displacement distance at 19 days, that is, a more elastic characteristic, as collagen is used at the time of healing of the injured tissue. There was no significant effect ($P > 0,05$) for lipid oxidation and cell count in mitosis in the jejunal mucosa crypt in relation to the control programs and the sanitary conditions evaluated. The vaccine program plus additive showed higher serum antioxidant capacity of DPPH at 19 days. The vaccinated group showed the highest ($P < 0,05$) level of ABTS at 19 days, positively impacting the antioxidant protection capacity. Serum FITC-d levels were lower ($P > 0,05$) for the challenged group. In the unfolding of the interaction of the factors for the b^* value measured on the broiler breast skin, a greater ($P < 0,05$) value was observed when the nutritional additive was added to the vaccine program. The vaccinated chickens showed smaller ($P < 0,05$) lesion score for *E. tenella* at 19 days. The vaccine program associated with the additive resulted in greater coloration of chicken feet for the control group at 19 days compared to the anticoccidial program without additive inclusion. The oocyst excretion behavior of the vaccinated birds demonstrated immunity formation and both anticoccidial programs were effective for the control of coccidiosis. The control of coccidiosis in broiler chickens using a vaccine attenuated by precocity can be an effective and safe alternative, capable of providing zootechnical performance similar to that obtained with the anticoccidial program in challenging situations or not. The use of a nutritional additive with short and medium chain fatty acids can be used in association with an anticoccidial program to enhance the results.

Keywords: Control coccidiosis, precocity attenuated vaccine, nutritional additive, intestinal health, broiler

1 INTRODUÇÃO

A produção de carne de frango cresceu 4,5% em 2020, com produção de aproximadamente 13.845 mil toneladas e exportação de 4.231 mil toneladas. Esse volume classifica o Brasil como o terceiro maior produtor e o maior exportador mundial de carne de frango do mundo (ABPA, 2021). Dessa forma, a avicultura é um dos setores mais importante do agronegócio brasileiro, pois reflete diretamente no cenário social, político, econômico do país.

Para garantir eficiência na produção de frangos de corte é fundamental que o setor busque alternativas que permitem melhorias contínuas nas áreas de manejo, ambiência, nutrição e principalmente na sanidade, pois o sistema de produção das aves favorece a exposição de diferentes microrganismos patogênicos que, muitas vezes, pode interferir na saúde e integridade intestinal e predispor a enfermidades.

Antibióticos promotores de crescimento (APC) são incluídos na dieta dos animais para manter níveis satisfatórios de sanidade e desempenho zootécnico. Entretanto, APC será gradualmente restrito ou mesmo proibido por causa da crescente preocupação com resíduos de medicamentos e bactérias resistentes (YANG et al., 2020). Diante disso, houve o desenvolvimento de alternativas naturais que possibilitou a continuidade da produção avícola eficiente.

A coccidiose aviária é uma doença comum na avicultura industrial, sendo caracterizada por afetar a saúde e integridade do trato intestinal e gerar grandes perdas econômicas com a queda dos indicadores zootécnicos em plantéis de frangos de corte e conseqüentemente elevação dos custos de produção (PINHEIRO et al., 2014).

Essa doença entérica é transmitida ao hospedeiro por ingestão do parasita intracelular do gênero *Eimeria* na forma de oocistos esporulados. O seu ciclo de vida inclui 2 fases, uma fase endógena, onde ocorre estágios de replicação assexuados e sexuais causando destruição de células do epitélio intestinal em processo de replicação e finalizando com a liberação de oocistos imaturos no ambiente pela luz intestinal e uma fase exógena, na qual ocorre a

esporulação do oocisto no ambiente para se tornar infeccioso novamente (CONWAY e MCKENZIE, 2007).

Em função das características do ciclo, são implantados programas preventivos contra a coccidiose de acordo com realidade de cada integração de frangos de corte, visando a manutenção da produtividade dos índices zotécnicos e econômicos. Até o momento, o controle da coccidiose tem se baseado principalmente em quimioprofilaxia. No entanto, a ocorrência de resistência, preocupações do consumidor e a crescente regulamentação de possíveis proibições futuras sobre o uso de drogas anticoccidianas como aditivos alimentares, têm induzido a busca por estratégias alternativas de controle, entre as quais vacinas, provaram ser a alternativa anticoccidiana mais sólida e de sucesso, devido sua eficácia e capacidade de aumentar a sensibilidade de *Eimeria spp.* isolados de drogas anticoccidianas (PEEK e LANDMAN, 2011).

Já existe no mercado vacinas que além do processo de atenuação são baseados na precocidade que se refere a um procedimento que seleciona os oocistos vacinas que completam seu ciclo de vida em até 30 horas mais rápida do que parasita da mesma cepa parental, resultando em formação de imunidade precoce e com redução significativa em sua capacidade reprodutiva (INNES e VERMEULEN, 2006).

A última geração de vacinas atenuadas inclui diluente composto de cor (violeta claro) e aromatizador (baunilha), desenvolvida para estimular sua ingestão da gota grossa no incubatório (Dardi et al., 2016). Além disso, o uso de adjuvantes (imunomoduladores) são capazes de potencializar a imunidade celular específica contra coccidiose. A modulação imunológica é crucial para fornecer uma imunidade forte, rápida e duradoura (DALLOUL, R.A e LILLEHOJ, H.S. 2005).

A vacinação contra coccidiose tem o intuito de prevenir a parasitose. Todavia, devido a tecnologia de vacinas atenuadas por precocidade a integridade intestinal é mantida e dessa forma, efeito positivo indireto da vacinação contra coccidiose sobre outras doenças pode ser esperado (RONSMANS, et al., 2015).

A associação de vacinas tecnológicas a um programa nutricional adequado, incluindo aditivos com ação trófica e reparadora de mucosa intestinal tem potencial uso como ferramenta eficaz para melhorar o desempenho zootécnico e também como alternativas aos APC em dietas para frangos de corte. Entre os aditivos do mercado, os ácidos graxos de cadeia curta (ácido butírico) e ácidos graxos de cadeia média (ácido láurico) podem ser utilizados de forma a melhorar suas respostas sobre os parasitas, metabolismo, a produtividade e a condição da mucosa intestinal quando adicionados na dieta de frangos de corte.

O butirato, possui atividade antimicrobiana, selecionando o crescimento de espécies de bacterianas benéficas e controlando bactérias nocivas como *Salmonella spp.*, *E.coli* e *Campylobacter jejuni* do trato digestivo das aves, devido à sua atividade de baixar o pH da moela (VAN DEUN et al., 2008). O ácido láurico é usado na avicultura em substituição a antibiótico e possui efeitos positivos sobre a saúde e o desempenho produtivo de frangos de corte, devido grande ação anti-inflamatória, propriedades antimicrobianas e estabilização da microbiota.

A hipótese desse estudo é que a utilização de vacina atenuada por precocidade contra coccidiose possa ser uma alternativa aos produtos anticoccidianos disponíveis no mercado e que em associação de um aditivo nutricionais como ácido butírico e láurico com programas de controle de coccidiose podem ter um efeito sinérgico em relação a melhoria da qualidade intestinal e controle de possíveis infecções oportunistas desencadeadas pela infecção de coccidiose em frangos de corte.

Pantoja et al. (2020) avaliaram aves vacinadas com cepas atenuadas por precocidade e desafiadas e avaliaram a associação com dietas suplementadas com AGCC e AGCM, concluindo que a suplementação com ácidos orgânicos das aves vacinadas reduziu ainda mais as lesões intestinais causadas pelo desafio de enterite necrótica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos e delineamento experimental

A pesquisa foi desenvolvida no biotério experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. Todos os procedimentos de criação dos animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação sob o processo CEUA 19/2020.

Foram alojados 672 pintinhos machos de 1 dia de idade, da linhagem Ross, provenientes de matrizes de 40 semanas de idade. A distribuição dos animais foi em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2 (4 programas de controle vs 2 condições sanitárias) totalizando 8 tratamentos com 6 repetições de 14 aves cada e total de 48 unidades experimentais (Tabela 2).

TABELA 2: TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

Tratamentos	Programa de controle		Condição sanitária
	Dieta	Programa	
T1	Controle	Anticoccidiano	Sem desafio
T2	Aditivo	Anticoccidiano	
T3	Controle	Vacina	
T4	Aditivo	Vacina	
T5	Controle	Anticoccidiano	Com desafio
T6	Aditivo	Anticoccidiano	
T7	Controle	Vacina	
T8	Aditivo	Vacina	

Aves dos tratamentos (3, 4, 7 e 8) foram vacinados via administração spray no incubatório com a vacina de coccidiose EVANT®- Hipra Saúde Animal-LTDA, com 5 espécies de *Eimeria* (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. praecox* e *E. tenella*) atenuadas por precocidade. Enquanto as aves dos tratamentos (1, 2, 5 e 6) receberam programa anticoccidiano Maxiban™80/80 - Elanco (80 gramas de narasina e 80 gramas de nicarbazina por kg), administrado via ração

na dosagem de 0,5kg/ton, indicada para prevenção da coccidiose causada por *Eimeria necatrix*, *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. mivati* e *E. máxima*.

Os tratamentos com dieta composta de ração controle não foram acrescidos de aditivo nutricional, enquanto os tratamentos com dieta suplementada com aditivo alimentar foram incluídos um blend comercial composto de ácidos graxos de cadeia curta (ácido butírico) e cadeia média (ácido láurico) -Presan®-FY- Trouw Nutrition, em inclusão de 1,5kg por tonelada de ração, conforme recomendação do fabricante.

O alojamento das aves ocorreu em gaiolas dispostas em salas distintas, sendo uma para aves desafiadas e a outra para as não desafiadas. As gaiolas (100cm x 80cm de superfície, n= 6 gaiolas por tratamento) foram forradas com papel picado autoclavado. O ambiente foi mantido a temperatura de conforto térmico para as aves conforme manual da linhagem, sendo que o suprimento de calor realizado através de aquecedores elétricos associados a condicionadores de ar e a ventilação/renovação do ar por meio de exaustores posicionados na parede da sala.

O fornecimento de água foi realizado com auxílio de bebedouros manuais (1 por gaiola) na primeira semana de vida e até os 28 dias de idade, do tipo *nipple* (6 por gaiola), sendo que a limpeza e a reposição da água foram realizadas diariamente, com a frequência de 3 vezes ao dia a fim de manter a temperatura e qualidade adequada da água fornecida aos animais.

O manejo das aves foi iniciado pelas aves do grupo controle e, em seguida, as aves desafiadas eram manejadas para evitar a contaminação entre os grupos. As rações experimentais, a base de milho, farelo de soja e trigo foram formuladas visando atender as exigências nutricionais das diferentes fases.

O programa nutricional foi dividido em 2 fases: inicial (1 – 14 dias idade) crescimento (15 – 28 dias idade) conforme as exigências nutricionais das diferentes fases das aves de acordo com as recomendações das agroindústrias locais (Tabela 3).

TABELA 3: INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS DIETAS

	Inicial	Crescimento
Milho	309,60	346,60
Farelo de trigo	220,00	220,00
Farelo de Soja	390,00	348,00
Óleo de Soja	42,00	50,00
Calcário Calcítico	10,40	9,20
Fosfato Bicálcico	10,00	9,00
Sal	4,70	4,20
L-Lisina 60%	3,30	3,50
DL-Metionina 99%	3,10	2,80
L-Treonina 99%	1,00	1,00
L-Valina 99%	1,40	1,40
Premix Vitamínico Mineral	2,00	2,00
Cloreto de Colina 60%	0,50	0,30
Caulin*	2,00	2,00
Lucantin yellow 10%	0,20	0,20
Níveis nutricionais		
EM Kcal/kg	2976,33	3076,08
Proteína Bruta, %	23,05	21,49
Extrato Etéreo, %	6,33	7,19
Fibra Bruta, %	4,00	3,78
Cálcio, %	0,87	0,79
Fósforo Disponível, %	0,43	0,41
Lisina Dig., %	1,28	1,19
Metionina Dig., %	0,62	0,57
Met + Cistina Dig., %	0,95	0,88
Triptofano Dig., %	0,26	0,24
Treonina Dig., %	0,84	0,79
Arginina Dig., %	1,41	1,29

¹Mistura vitamínica (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 4.000UI; Vit. D3 1.167UI; Vit.E 10.000UI; Vit. K3 1.000mg; Vit. B1 1.000mg; Vit. B2 2.666,67mg; Vit. B6 1.667,00mg; Vit. B12 6.666,67mcg; Niacina 13.333,33mg; Ácido Pantotênico 6.000mg; Ácido Fólico 833,33mg; Biotina 80.000mcg; Antioxidante 22.200mg. Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 23.333,33ppm; Cobre 2.666,67ppm; Iodo 333,3ppm; Zinco 33.333,33ppm; Manganês 40.000ppm; Selênio 80ppm. Fitase 16.667g/kg; Complexo enzimático (xilase, amilase e protease) 33,333g/kg

* Caulin : substituído pelo aditivo nutricional (Presan®-FY - 1,5kg/ton) nos tratamentos T2, T4, T6 e T8 e pelo produto anticoccidiano (Maxiban™80/80 – 0,5kg/ton) nos tratamentos T1, T2, T5 e T6.

Aos 14 dias de idade, as aves foram submetidas ao desafio entérico. Os tratamentos 5, 6, 7 e 8 receberam a vacina anticoccidiana comercial Bio-Coccivet R® (Biovet) contendo as espécies *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*, inoculada diretamente no ingluvío de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina. Após dois dias, 2 mL de inóculo

conteúdo 10^9 UFC/ave de *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) foi administrado diretamente no ingluvívio de cada ave do grupo desafiado.

Desempenho produtivo

O desempenho produtivo (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) dos animais foi avaliado aos 7, 14, 19, 21 e 28 dias de idade através de pesagem das aves e da sobra de ração. A conversão alimentar foi calculada e corrigida pela mortalidade semanal das aves conforme metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2007).

Morfometria intestinal

Aos 19 e 28 dias de idade, 2 aves/repetição (12 aves/tratamento) foram sacrificadas e obtidos fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento do duodeno, jejuno, íleo, os quais foram presos abertos longitudinalmente em placas de isopor, e lavados com soro fisiológico. As amostras foram fixadas em solução de formol tamponado e após emblocadas em parafina. Cada fragmento foi submetido à cortes semiseriados de 5 μ m de espessura e corados por HE. Para o estudo morfométrico, as imagens foram capturadas por meio da microscopia de luz (objetiva 10x), utilizando-se o sistema analisador de imagens computadorizado (ImagePro-Plus - Versão 5.2 – Média Cibernética). Neste estudo foram mensurados o comprimento e largura de 20 vilos e a profundidade e 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 Kisielinskiet 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

Tensão de ruptura, distância e dureza da mucosa intestinal do íleo

Um segmento de íleo foi coletado (± 8 cm) de duas aves/ repetição aos 19 e 28 dias e mantido em solução fisiológica por 24hs. As amostras foram submetidas ao ensaio de flexão à taxa de deformação constante para material visco-elástico com auxílio de um dispositivo de fixação para teste de perfuração adaptada ao texturômetro (Modelo TA-XT2i, Stable Mycro Systems LTDA., Goldalming, UK). Foi obtida a força de ruptura (kg) e elasticidade (mm) da mucosa do segmento intestinal, que corresponde à distância que a ponta de prova percorreu antes de atingir o pico. Os parâmetros utilizados foram: velocidade de 1 mm/s, força do disparo de 10 g e tensão de 15 mm.

Avaliação da oxidação lipídica (TBARS)

O teor de malonaldeído (MDA) do segmento intestinal jejuno de 2 aves por tratamento aos 19 e 28 dias de idade foi quantificado usando o ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) adaptado por Vital et al. (2016). As amostras foram coletadas e mantidas em solução fisiológica 0,9% até o processamento. A porção intestinal (2 g) foi misturada com solução de TCA (7,5% TCA, 0,1% EDTA e 0,1% ácido gálico) (10 mL), homogeneizada em ultra turrax (Tecnal Turratec TE-102, Piracicaba, SP, Brazil) (7000 rpm, 1 min) e centrifugada (4000 rpm, 4 ° C, 15 min). O sobrenadante foi filtrado e misturado (1: 1 V / V) com o reagente TBARS (1% TBA, 562,5 mM HCl, 15% TCA). A mistura foi fervida (100 ° C, 15 min), resfriada, e então a absorbância foi medida (532 nm) (VITAL et al., 2016). As concentrações foram determinadas adotando-se uma curva padrão de malodialdeído (MDA) (utilizando 1,3,3-tetrametoxipropano), variando de 0 a 60 mM. Os resultados foram expressos em mg MDA kg⁻¹ do intestino e centrifugado a 2500 rpm a 4 ° C por 10 min, para análise da substância reativa ao TBARS resultantes da oxidação lipídica da amostra.

Capacidade antioxidante sérica (radical ABTS e DPPH)

Na avaliação da atividade antioxidante aos 19 e 28 dias de idade, foi coletado sangue de 2 aves/tratamento. Após a coleta, o sangue foi centrifugado por 15 minutos à 3500 rpm para a extração do soro e em seguida armazenado em microtubos em freezer – 80° C.

Foram realizadas as análises de determinação da capacidade antioxidante total no soro pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), segundo a técnica adaptada de RUFINO et al. (2007) e Souza et al. (2007) e radical ABTS por. Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre DPPH e ABTS E para radical ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) foi obtido através da interação de solução ABTS 7 mM (5 mL) com 88 mL de persulfato de potássio 140 mM. A mistura foi incubada no escuro a 25 °C durante 16 horas, diluída com etanol até absorvância de 0.70 ± 0.2 . Uma alíquota de 30 µL das amostras foram misturados com 3000 µL da solução ABTS e a absorvância medida em 734 nm após 6 minutos (RE et al., 1999).

Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal através de níveis séricos de FITC-d

Para avaliar a permeabilidade intestinal, foi utilizada a administração oral de isotiocianato de dextrano de fluoresceína (FITC-d) e quantificada a passagem para o sangue. Aos 5 dias após o desafio entérico (19 dias de idade), FITC-d foi administrado por via oral a 2 aves/repetição (2.2 mg/mL, FITC-d, 100 mg, MW 4,000; Sigma-Aldrich). As aves ficarão sem consumir ração por 2 horas e então foi coletado sangue das aves para determinar a concentração de FITC-d por mL de 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 “afrouxamento” das tight junctions, por inflamações entéricas, o FITC-d pode chegar à circulação e ser detectado.

Avaliação da atividade proliferativa das células intestinais do jejuno por imuno-histoquímica (contagem de células em mitose)

As amostras de jejuno emblocadas foram novamente utilizadas para obter cortes de 5µm de espessura, que foram preparados em lâminas silanizadas e a atividade proliferativa analisada por imunohistoquímica para PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen). O PCNA (anti-PCNA; FL-261; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, Ca, USA) será detectado com um rabbit polyclonal antibody contra os aminoácidos 1-261 do PCNA humano. De cada lâmina foram capturadas cinco imagens da região da base do vilão em aumento de 40x. Cada imagem foi medida e quantificadas as células PCNA positivas nestas regiões por milímetro quadrado. Também foi feita a contagem de células PCNA positivas por cripta.

Escore de lesões (intestino superior, médio e inferior e ceco)

Aos 21 (7 dias pós infecção) e 28 (14 dias pós infecção) dias de idade, 2 aves/repetição (n= 12 aves/tratamento) foram avaliados segundo o grau de lesão intestinal de para identificação da espécie de *Eimeria spp* envolvida. A avaliação do grau de lesões seguiu a a uma escala de 0 (zero) a 4, segundo o critério de Johnson e Reid (1970).

Coloração dos pés e pele do peito

Em todas as dietas foi adicionado carotenoide comercial (Lucantin yellow 10% - 0,200kg/ton) para auxiliar a mensuração tegumentar. Para análise de coloração de pele do peito de frangos de corte foi realizada com a adaptação da metodologia do sistema de cores CIE - L*, a*, b* de Harder et al. 2005. Foram capturadas as variáveis L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo) na porção crânio ventral direita da pele do peito da carcaça de 3 aves/repetição utilizando um colorímetro Minolta CR-400 aos 19 e 29 dias de idade. O valor de a* caracteriza coloração na região do vermelho (+a*) ao verde (-a*), o valor b* indica coloração no intervalo do amarelo (+b*) ao azul (-b*). As áreas selecionadas para a mensuração estavam livres de defeitos (hematomas, descolorações, hemorragias ou qualquer outra condição que pudesse afetar a avaliação). A coloração dos pés foi feita pela metodologia de

Paleta de Cores da Roche ("The Roche Colour Fan") foi usada para medir o score de coloração dos pés de frangos de corte aos 19 e 28 dias, numa escala de valores de 1 a 15.

Número de oocistos por grama (OoPG)

A determinação do OoPG foi realizada aos 21 e 28 dias. Uma porção de 10 g de excretas foi coletada em pontos distintos diretamente de cada gaiola, sendo coletadas em quatro pontos distintos. As amostras foram armazenadas em frascos plásticos e colocadas sob refrigeração (8 °C), processadas (obtendo-se um pool de cada gaiola) A contagem de oocistos foi realizada seguindo-se a técnica de McMaster.

Análise Estatística

Os resultados obtidos no experimento foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Lineal Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (*Statistical Analysis System*) e quando significativas, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desempenho produtivo entre 1 a 7 e 1 a 14 dias idade é apresentado apenas em função dos programas de controle, uma vez que o desafio experimental ao qual as aves foram expostas foi aplicado somente aos 14 dias de idade. O uso de aditivo nutricional na dieta e vacina contra coccidiose não influenciou ($P>0,05$) o peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar dos frangos de corte nesse período (Tabela 4).

É importante ressaltar que a adição de uma vacina anticoccidiana atenuada por precocidade não afetou o desempenho produtivo na fase inicial do desenvolvimento das aves do estudo, mesmo com as aves já terem nesse período passado por pelo menos 2 ciclos endógenos com replicações assexuada e sexuada dos oocistos vacinais nos enterócitos, necessário para geração da imunidade celular efetiva.

Mcbride e Kelly (1990) estimaram que a manutenção do epitélio intestinal e estruturas anexas de suporte tem custo de 20% da energia bruta consumida pelo animal. Dessa forma, é possível considerar que o uso de uma vacina atenuada por precocidade não prejudicou a absorção de nutrientes na mucosa intestinal, já que uma renovação celular se faz às custas de consumo de nutrientes, e conseqüentemente resultados zootécnicos baixos.

De acordo com Gadde et al. (2017), aditivo nutricional como ácidos orgânicos são considerados excelentes alternativas ao uso de antibióticos promotores de crescimento devido sua natureza antimicrobiana própria, e o uso destes produtos tem demonstrado excelentes benefícios na produção de aves e suínos há anos. Dessa forma há uma grande expectativa de que os aditivos nutricionais alternativos melhorem os índices zootécnicos. Entretanto, é importante considerar que o ambiente do estudo possuía boas condições sanitárias, dieta equilibrada e boa ambiência, podendo ser uma justificativa da ausência de melhores resultados em relação a adição de aditivos na dieta para tais situações.

TABELA 4: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO, ANTES DO DESAFIO ENTÉRICO

1 a 7 dias de idade				
	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Programas				
Controle + PA	186,40	140,93	147,35	1,038
Aditivo + PA	187,01	141,84	146,50	1,032
Controle + VA	186,77	141,70	148,88	1,050
Aditivo + VA	187,82	142,26	146,20	1,028
CV%	4,86	6,26	4,90	3,39
p-valor	0,9841	0,9863	0,8038	0,4506
1 a 14 dias de idade				
Programas				
Controle + PA	425,63	380,16	427,07	1,116
Aditivo + PA	421,78	376,67	427,70	1,125
Controle + VA	424,04	376,23	432,09	1,123
Aditivo + VA	425,11	379,55	426,41	1,124
CV%	4,48	5,25	4,44	2,27
p-valor	0,9614	0,9478	0,8826	0,8115

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

O desafio entérico foi realizado aos 14 dias e o desempenho produtivo avaliado no intervalo entre 14 e 19 dias não demonstrou efeito significativo ($P > 0,05$) dos programas de controle ou desafio entérico (Tabela 5). Porém, houve diferença significativa para o desafio na idade entre 19 e 21 dias ($P < 0,05$). O grupo de aves desafiadas, independentemente dos programas utilizados, apresentou menor ($P < 0,05$) ganho de peso e consumo de ração comparado com o controle. Esse resultado demonstra que tanto o programa anticoccidiano, quanto a vacina apresentaram resultados de desempenho produtivo semelhantes, independente do desafio entérico, exibindo a efetividade de vacina atenuada por precocidade na fase de pico da formação da imunidade.

Existe um paradigma popular na indústria avícola de corte em relação a possível perda de resultados zootécnicos com uso de vacinas contra coccidiose. De acordo com Cervantes (2015) a maior preocupação potencial em relação ao uso de vacinas atenuadas inclui o risco de causar danos significativo ao epitélio intestinal dos frangos de corte. Newman (1999) diz que a utilização de vacinas atenuadas sempre foi marcada pela “reação vacinal”, a qual é traduzida pela presença de lesões intestinais, conseqüentes da invasão e multiplicação dos parasitas e, com posterior decréscimo dos resultados zootécnicos.

Aditivos nutricionais são considerados ferramentas essenciais para o aprimoramento do desempenho zootécnico na avicultura (HANKEL et al., 2018). Estudos semelhantes presente estudo, conduzidos por McKnight et al. (2019) relataram melhor conversão alimentar quando utilizado aditivo alimentar.

TABELA 5: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (14 A 19 E 19 A 21 DIAS) SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.

	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
<u>14 a 19 dias de idade</u>			
Programas			
Controle + PA	254,05	334,47	1,337
Aditivo + PA	264,25	351,72	1,271
Controle + VA	278,60	359,02	1,314
Aditivo + VA	269,72	350,06	1,288
Condição sanitária			
Sem desafio	270,36	353,47	1,303
Com desafio	262,95	344,17	1,302
CV%	13,35	8,65	4,95
p-valor			
Programas	0,4027	0,2548	0,1795
Desafio	0,4754	0,2917	0,9452
Programas x desafio	0,1576	0,1674	0,4789
<u>19 a 21 dias de idade</u>			
Programas			
Controle + PA	244,26	312,96	1,319
Aditivo + PA	234,19	308,55	1,361
Controle + VA	234,73	315,33	1,367
Aditivo + VA	228,81	310,10	1,332
Condição sanitária			
Sem desafio	248,77 ^a	322,86 ^a	1,312
Com desafio	222,23 ^b	300,62 ^b	1,378
CV%	11,21	5,17	8,88
p-valor			
Programas	0,5513	0,7646	0,7268
Desafio	0,0012	<,0001	0,0654
Programas x desafio	0,8691	0,1724	0,9201

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

A avaliação do período que compreendeu uma semana pós-infecção mostrou efeito apenas do desafio entérico que resultou em menor peso vivo e ganho de peso das aves desafiadas em relação às que não foram desafiadas. Aos 28 dias de idade, portanto, duas semanas pós-infecção, observa-se menor (P<0,05) peso vivo das aves desafiadas em relação as do grupo controle, independentemente do programa anticoccidiano utilizado. Por outro lado, as

aves que foram desafiadas já apresentam melhor conversão alimentar ($P < 0,05$) em relação às não desafiadas, demonstrando regeneração e recuperação da mucosa intestinal. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) para conversão alimentar em relação aos programas utilizados. O uso da vacina anticoccidiana sem inclusão do aditivo nutricional apresentou maior conversão alimentar comparado com uso do programa anticoccidiano associado ao aditivo. Entretanto, quando a vacina é associada com aditivo não apresenta diferença estatística para conversão alimentar comparado com os outros tratamentos (Tabela 6).

Esse resultado indica que a associação de vacina contra coccidiose pode e um suporte nutricional diferenciado pode auxiliar o desempenho produtivo dos frangos de corte. Entre os avanços alcançados na avicultura podemos destacar o desenvolvimento dos promotores de crescimento e seus alternativos classificados como aditivos nutricionais utilizados com objetivo de controlar microorganismos, manutenção da saúde e integridade intestinal e assim maximizar o desempenho produtivo. Portanto, o controle da coccidiose (vacina ou anticoccidiano) sempre é associado com algum promotor de crescimento.

Anticoccidianos ionóforos possuem efeito de promotor de crescimento com potencial de melhora na conversão alimentar de frangos de corte (CORPET, 2000). Apesar desse benefício, uso da droga narasina no programa anticoccidiano, não apresentou melhora no desempenho produtivo entre o tratamento de aves vacinadas daqueles tratadas com anticoccidianos).

Os medicamentos anticoccidianos podem ser considerados uma opção para controle da coccidiose em frangos de corte. Porém, problemas de cepas resistentes de *Eimeria* no campo, desencadeou a sensibilidade reduzida dos parasitas quando um determinado produto é usado por muito tempo ou com muita frequência e pela resistência cruzada entre certos compostos (MARIEN et al., 2007). Além desse fator, existe a possibilidade de resíduos na carne de frango, exigência do mercado consumidor, bem como da legislação, sendo essas razões determinantes para necessidade de abordagens alternativas para prevenção da coccidiose na avicultura.

Cepas de *Eimeria* spp resistentes a drogas são responsáveis pela coccidiose subclínica e clínica e, conseqüentemente, podem originar frangos

com baixo desempenho zootécnico e perdas econômicas (SHIRZAD et al., 2011). Vacinas de coccidiose atenuadas são capazes de promover a restauração da sensibilidade de *Eimeria spp* de campo para posterior uso de anticoccidianos (PEEK & LANDMAN, 2011). O ambiente do estudo experimental em questão não apresentava exposição aos oocistos de campo que poderiam ser resistentes aos anticoccidianos, devido longo vazio sanitário e resultado de OoPG baixo nas fezes no grupo controle (Tabela 24) que comprovam a ausência de oocistos de campo. Em condições de campo, é possível avaliar benefício do uso de vacinas atenuadas por precocidade para restaurar a sensibilidade dos anticoccidianos.

TABELA 6: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (14 A 21 E 21 A 28 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.

	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
14 a 21 dias de idade				
Programas				
Controle + PA	923,94	498,31	654,84	1,314
Aditivo + PA	928,11	506,87	667,28	1,317
Controle + VA	937,37	513,33	670,71	1,322
Aditivo + VA	923,65	498,54	660,17	1,301
Condição sanitária				
Sem desafio	902,45 ^a	519,13 ^a	674,51	1,306
Com desafio	858,17 ^b	489,40 ^b	651,99	1,321
CV%	5,32	7,12	6,25	3,34
p-valor				
Programas	0,8815	0,6938	0,7946	0,7184
Desafio	0,0022	0,0072	0,0705	0,2965
Programas x desafio	0,3249	0,1884	0,4930	0,8643
21 a 28 dias de idade				
Programas				
Controle + PA	1531,08	601,50	881,02	1,468 ^{ab}
Aditivo + PA	1550,16	621,76	859,96	1,386 ^b
Controle + VA	1526,24	594,32	890,61	1,501 ^a
Aditivo + VA	1550,75	627,09	903,01	1,440 ^{ab}
Condição sanitária				
Sem desafio	1561,78 ^a	608,74	894,03	1,472 ^a
Com desafio	1517,33 ^b	613,60	873,27	1,426 ^b
CV%	4,06	7,22	6,94	5,51
p-valor				
Programas	0,6858	0,2227	0,3792	0,0086
Desafio	0,0182	0,7051	0,2480	0,0522
Programas x desafio	0,2344	0,3752	0,8366	0,3392

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

Para o período acumulativo de 1 a 21 dias e 1 a 28 dias de idade, o desafio entérico influenciou significativamente ($P < 0,05$) o ganho de peso em ambos os períodos, sendo que aves do grupo controle apresentaram melhor ganho de peso (Tabela 7). Em relação ao controle da coccidiose, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) para desempenho produtivo para nenhum dos programas utilizados. Isso pode ser explicado pela efetividade de ambos os tratamentos para controle da coccidiose.

Ronsmans et al. (2015) demonstraram que frangos de corte ao receber controle de coccidiose com anticoccidianos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos resultados produtivos comparados com lotes que receberam vacina atenuada por precocidade. O que se espera de uma vacina para coccidiose em frangos é que a cada ciclo de vacinação o resultado zootécnico melhore de acordo com a substituição de oocistos resistentes de campo por oocistos vacinais sensíveis a drogas anticoccidianas.

Em um estudo de Mathis e Lang (2001) aves vacinadas sem desafio entérico, apresentam ganho de peso compensatório na idade de abate por volta de 42 dias com peso superior ou igual ao das aves submetidas às drogas anticoccidianas. Dessa forma, prolongar o estudo até 42 dias de idade, período médio de abate de aves em sistemas industriais, poderia demonstrar ganho compensatório para esses tratamentos em relação ao desempenho produtivo não possibilitado neste estudo.

TABELA 7: DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS DE CORTE (1 A 21 E 1 A 28 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO.

	1 a 21 dias de idade		
	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Programas			
Controle + PA	878,48	1081,91	1,225
Aditivo + PA	875,12	1094,99	1,235
Controle + VA	889,57	1110,72	1,239
Aditivo + VA	878,09	1086,58	1,221
Condição sanitária			
Sem desafio	902,45 ^a	1112,71 ^a	1,228
Com desafio	858,17 ^b	1074,39 ^b	1,233
CV%	5,32	4,95	2,15
p-valor			
Programas	0,8815	0,5840	0,4717

Desafio	0,0022	0,0187	0,5312
Programas x desafio	0,3249	0,4070	0,6710
1 a 28 dias			
Programas			
Controle + PA	1479,98	1962,94	1,326
Aditivo + PA	1496,89	1954,95	1,307
Controle + VA	1483,89	2001,33	1,348
Aditivo + VA	1505,19	1989,60	1,321
Condição sanitária			
Sem desafio	1511,20 ^a	2006,74 ^a	1,328
Com desafio	1471,77 ^b	1947,67 ^b	1,324
CV%	4,53	4,80	3,00
p-valor			
Programas	0,7846	0,5957	0,1004
Desafio	0,0500	0,0372	0,7268
Programas x desafio	0,1930	0,7156	0,3460

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

Os resultados obtidos para morfometria da mucosa intestinal do segmento duodeno de frangos de corte (Tabela 8) mostram que aos 19 dias houve efeito significativo ($P < 0,05$) do desafio sanitário, onde aves desafiadas apresentaram menor relação vilos:cripta. Aos 28 dias, o grupo desafiado apresentou maior área de absorção, quando comparado com o controle, demonstrando que em condições experimentais aves desafiadas podem apresentar rápida regeneração e recuperação do seguimento intestinal duodeno.

Houve uma interação significativa ($P < 0,05$) entre desafio e dieta para espessura da camada muscular. No desdobramento da interação (Tabela 9), não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos do grupo controle e desafiado. Considerando as diferenças dentro de cada tratamento, observou-se que somente o tratamento composto pelo programa anticoccidiano acrescido pelo aditivo resultou em menor espessura da camada muscular para grupo desafiado.

A maior parte do aproveitamento dos nutrientes ocorre no intestino delgado. O duodeno é o segmento intestinal que apresenta maior densidade e altura de vilos seguido do jejuno, ambos responsáveis pela maior parte da absorção intestinal (UNI et al. 2000).

TABELA 8: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	19 dias						RVC μm	ABS μm^2
	CV μm	LV μm	PC μm	LC μm	CM μm			
Programas								
Controle + PA	526,41	89,58	46,18	28,27	51,20	11,84	13,56	
Aditivo + PA	531,44	91,86	44,28	28,69	55,63	11,84	13,17	
Controle + VA	515,52	96,22	48,77	28,50	56,36	10,72	12,85	
Aditivo + VA	522,66	97,55	48,05	30,00	57,21	10,89	13,02	
Condição sanitária								
Sem desafio	534,70	94,80	46,24	28,92	57,60	11,95 ^a	13,20	
Com desafio	513,31	92,81	47,40	28,81	52,60	10,69 ^b	13,10	
CV%	22,16	23,16	17,18	9,69	22,32	27,58	23,05	
p-valor								
Programas	0,9724	0,5628	0,2502	0,1727	0,3442	0,4623	0,8811	
Desafio	0,3782	0,6598	0,4941	0,8558	0,0531	0,0547	0,8867	
Programas x desafio	0,1934	0,3756	0,4983	0,5255	0,0477	0,4946	0,2530	
28 dias								
Programas								
Controle + PA	696,30	101,33	44,80	29,25	80,93	17,15	15,56	
Aditivo + PA	669,28	92,43	44,43	29,28	82,98	17,41	15,58	
Controle + VA	734,17	106,73	49,67	31,22	78,23	17,84	15,85	
Aditivo + VA	707,49	113,32	45,33	30,33	76,80	16,38	15,98	
Condição sanitária								
Sem desafio	681,65	100,63	47,08	29,98	80,68	17,18	14,89 ^b	
Com desafio	721,98	106,28	45,03	30,06	78,79	17,21	16,60 ^a	
CV%	19,61	28,55	18,91	10,47	16,74	27,90	27,46	
p-valor								
Programas	0,4468	0,1000	0,1394	0,1049	0,3978	0,7584	0,9837	
Desafio	0,1572	0,3511	0,2524	0,9113	0,4984	0,9773	0,0577	
Programas x desafio	0,7504	0,8016	0,5452	0,6823	0,4910	0,8547	0,7415	

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). A: programa antioocidiano, VA: vacina antioocidiana, CV: comprimento do vilô, LV:largura do vilô, PC: profundidade de cripta, LC: largura cripta, CM: camada muscular, RVC: relação vilô:cripta, ABS: área de absorção.

TABELA 9: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA CAMADA MUSCULAR DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle + PA	Aditivo +PA	Controle +VA	Aditivo +VA	
Sem desafio	52,68	63,43 ^a	54,01	60,27	0,1991
Com desafio	49,72	47,83 ^b	58,70	54,15	0,0852
p-valor	0,5967	0,0010	0,2766	0,3469	

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste Tukey $P < 0,05$).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

Para jejuno, observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) aos 19 dias para largura de vilo e área de absorção. Aves vacinadas apresentaram maior ($P < 0,05$) largura de vilo em comparação ao programa anticoccidiano associado ou não ao aditivo. Já para área de absorção, aves que receberam programa anticoccidiano demonstraram maior área de absorção em comparação com o programa vacina associado ou não ao aditivo. Em relação ao desafio entérico, aves desafiadas apresentaram maior ($P < 0,05$) largura de cripta e menor camada muscular. Houve também interação significativa entre programa e desafio para profundidade de cripta e relação vilo:cripta (Tabela 10).

No desdobramento da interação da tabela 11, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos no grupo controle. Para o grupo desafiado, observou-se maior ($P < 0,05$) profundidade de cripta, para aves que receberam programa vacinal para coccidiose, comparado com o programa anticoccidiano acrescido de aditivo. Porém ao associar aditivo e vacina não houve diferença com os demais tratamentos, mostrando o benéfico do uso de aditivo nutricional como coadjuvante nos casos de desafio.

A tabela 12 demonstra o desdobramento da interação da relação vilo:cripta do segmento jejuno. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos no grupo controle. Já para o grupo desafiado, aves do programa anticoccidiano associado ou não ao aditivo, apresentaram maior relação vilo:cripta comparado com o programa vacina acrescida ou não do aditivo. O desafio resultou em menores ($P < 0,05$) valores de relação vilo:cripta para o programa com vacina associado ou não ao aditivo.

Aos 28 dias, observou-se que o grupo vacinado acrescido ou não de aditivo apresentou maior ($P < 0,05$) comprimento do vilo e profundidade de cripta quando comparado ao grupo que recebeu apenas programa anticoccidiano. Esse resultado permite afirmar, que após duas semanas do desafio, as aves que receberam o programa de vacina associada ao aditivo apresentaram maior resposta regenerativa, visto a maior profundidade de cripta, responsável pelo processo de diferenciação de novas células e que resultou em maior comprimento do vilo. Do ponto de vista zootécnico, neste estudo, os resultados sugeriram (tabelas 4, 5 e 6) que é possível inferir que a vacinação é uma excelente opção de controle da coccidiose, com resultados semelhantes ao uso das drogas anticoccidianas.

Importante citar que, aves vacinadas contra coccidiose com cepas atenuadas por precocidade completaram pelo menos 2 ciclos de vida na mucosa intestinal do hospedeiro aos 19 dias de idade. Assim sendo, não impactou drasticamente a integridade intestinal, pelo contrário, estimulou a imunidade celular precoce e imunogênica sem diminuir a capacidade de absorção do intestino e conseqüentemente o desempenho produtivo das aves.

TABELA 10: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	19 dias					
	CV μm	LV μm	PC μm	LC μm	CM μm	ABS μm^2
Programas						
Controle + PA	349,72	68,05 ^b	40,62	29,22	60,65	10,97 ^a
Aditivo + PA	348,21	69,43 ^b	40,58	28,19	57,35	10,37 ^{ab}
Controle + VA	330,00	80,88 ^a	42,65	29,37	51,72	9,35 ^b
Aditivo + VA	331,25	75,09 ^{ab}	42,781	29,80	55,54	9,21 ^b
Condição sanitária						
Sem desafio	337,01	72,29	39,48	28,32 ^b	63,13 ^a	10,05
Com desafio	342,58	74,44	43,83	29,97 ^a	49,50 ^b	9,90
CV%	17,23	19,28	16,83	11,33	21,81	16,86
p-valor						
Programas	0,5255	0,0178	0,5977	0,4330	0,1277	0,0023
Desafio	0,6513	0,4928	0,0059	0,0250	<,0001	0,6789
Programas x desafio	0,7044	0,5419	0,0273	0,1038	0,4054	0,4929
	28 dias					
Programas						
Controle + PA	404,60 ^{bc}	77,35	34,99 ^b	31,75	64,37	11,74
Aditivo + PA	395,90 ^c	75,50	36,97 ^{ab}	29,34	66,86	10,91
Controle + VA	483,58 ^a	85,15	42,73 ^a	31,78	72,33	11,22
Aditivo + VA	463,75 ^{ab}	78,46	42,06 ^a	31,22	71,71	10,74
Condição sanitária						
Sem desafio	422,58	76,06	35,62 ^b	30,59	66,48	11,94
Com desafio	451,33	82,16	42,76 ^a	31,46	71,15	10,41 ^b
CV%	19,74	25,44	17,75	11,41	18,50	18,72
p-valor						
Programas	0,0009	0,3773	0,0003	0,0634	0,1006	0,3781
Desafio	0,1077	0,1476	<,0001	0,2336	0,0773	0,0009
Programas x desafio	0,8508	0,5546	0,8184	0,4665	0,0761	0,5381

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa antioocidiano, VA: vacina antioocidiana, CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade de cripta, LC: largura cripta, CM: camada muscular, RVC: relação vilão:cripta, ABS: área de absorção.)

TABELA 11: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO PC DO JEJUNO (19 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle + PA	Aditivo + PA	Controle + VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	38,90	41,13	36,69 ^b	41,20	0,4706
Com desafio	42,35 ^{AB}	40,02 ^B	48,60 ^{Aa}	44,36 ^{AB}	0,0328
p-valor	0,2489	0,6065	0,0011	0,4336	

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

TABELA 12: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA RELAÇÃO VILO:CRIPTA (19 DIAS), SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle + PA	Aditivo + PA	Controle + VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	9,01	8,62	9,34 ^a	8,64 ^a	0,6848
Com desafio	8,45 ^A	8,65 ^A	6,85 ^{Bb}	7,25A ^{Bb}	0,0064
p-valor	0,2707	0,9559	0,0018	0,0491	

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha diferem entre si. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

Em relação a morfometria do segmento íleo aos 19 dias, observou-se que aves vacinadas suplementadas com aditivo apresentaram maior (P<0,05) largura de vilo comparado com o programa anticoccidiano isento do aditivo. Os demais tratamentos não diferiram entre si. Aves desafiadas apresentaram maior (P<0,05) largura de cripta comparadas com aves do grupo controle (Tabela 13).

Aos 28 dias, aves que receberam programa anticoccidiano e vacina sem a inclusão do aditivo, apresentaram maior (p<0,05) profundidade de cripta, comparado com o programa anticoccidiano acrescido de aditivo, porém o programa vacina associado ao aditivo não diferiu dos demais tratamentos. Para camada muscular, aves que receberam o programa anticoccidiano e vacina acrescido do aditivo apresentaram maior (p<0,05) valor para o parâmetro comparado com o programa anticoccidiano acrescido de aditivo. O desafio entérico aplicado aos 14 dias de idade aumentou a profundidade e largura das criptas, independente dos programas de controle. Esse resultado demonstra a capacidade de regeneração da mucosa intestinal quando as condições de manejo e ambientais são favoráveis. Condições essas, nem sempre observadas em situações de criação comercial de frangos de corte.

TABELA 13: MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	CV μm	LV μm	PC μm	LC μm	CM μm	RVC μm	ABS μm^2
19 dias							
Programas							
Controle + PA	242,18	69,12 ^b	35,50	26,68	86,86	6,76	7,85
Aditivo + PA	219,24	73,44 ^{ab}	35,37	27,33	82,24	6,27	6,94
Controle + VA	234,20	75,80 ^{ab}	37,03	28,06	77,02	6,56	7,327
Aditivo + VA	233,21	80,07 ^a	35,57	27,52	78,07	6,53	6,91
Condição sanitária							
Sem desafio	231,12	73,22	35,34	26,27 ^b	83,33	6,62	7,49
Com desafio	233,29	75,99	36,40	28,52 ^a	78,77	6,44	7,01
CV%	23,52	15,95	22,80	12,81	32,63	19,10	25,51
p-valor							
Programas	0,5367	0,0202	0,9001	0,6276	0,5761	0,6069	0,2629
Desafio	0,8472	0,2690	0,5340	0,0029	0,4097	0,4913	0,2162
Programas x desafio	0,8237	0,6197	0,4195	0,4019	0,4365	0,6618	0,5547
28 dias							
Programas							
Controle + PA	262,03	89,43	40,34 ^a	32,17	110,18 ^a	6,86	11,74
Aditivo + PA	255,42	84,38	35,02 ^b	32,57	89,86 ^b	6,86	10,91
Controle + VA	283,92	92,53	39,55 ^a	34,30	100,52 ^{ab}	6,96	11,22
Aditivo + VA	275,46	91,41	38,54 ^{ab}	33,58	108,16 ^a	6,81	10,74
Condição sanitária							
Sem desafio	271,11	88,73	36,59 ^b	31,93 ^b	99,26	6,96	11,89 ^a
Com desafio	267,31	90,14	40,14 ^a	34,38 ^a	105,11	6,78	10,41 ^b
CV%	15,89	12,29	17,72	11,08	20,58	17,70	18,72
p-valor							
Programas	0,1100	0,0736	0,0484	0,1962	0,0083	0,9815	0,3781
Desafio	0,6781	0,5485	0,0143	0,0019	0,2044	0,4926	0,0009
Programas x desafio	0,9871	0,1071	0,7849	0,0930	0,6308	0,7511	0,5381

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). PA: programa antioocidiano, VA: vacina antioocidiana, CV: comprimento do vilô, LV: largura do vilô, PC: profundidade de cripta, LC: largura cripta, CM: camada muscular, RVC: relação vilô:cripta, ABS: área de absorção.

O uso de programa de controle de coccidiose associado ou não ao aditivo nutricional na dieta não afetou ($P>0,05$) a tensão de ruptura, distância e dureza do íleo de frangos de corte aos 19 e 28 dias de idade. Em relação ao desafio entérico, para desafio observou-se uma maior ($P<0,05$) distância de deslocamento do probe aos 19 dias (Tabela 14). Esse resultado, pode ser relacionado com a maior elasticidade do, uma vez que momento da cicatrização do tecido lesionado é utilizado colágeno, proteína que corresponde ao principal componente da matriz extracelular dos tecidos e é utilizado na fase de maturação ou remodelamento (JUNQUEIRA e CARNEIRO et al., 2018), dessa forma o tecido pode apresentar característica mais elástica.

Embora a suplementação do aditivo não tenha resultado em melhorias a resistência e elasticidade nesse estudo, aditivos como ácidos orgânicos podem promover ativação de enzimas proteolíticas, alterações no pH intestinal, melhorar a produção de sais biliares e modificar a microbiota gastrointestinal e melhorar o funcionamento do aparelho digestório, resultando em maior absorção de nutrientes e conseqüentemente melhores resultados zootécnicos (VAN IMMERSEEL et al. 2006). Essa afirmação condiz com os resultados de desempenho zootécnico desse estudo, já que aves vacinadas e suplementados com aditivo na dieta apresentaram melhor conversão alimentar do que aquelas sem o aditivo entre 21 e 28 dias de idade, demonstrado na tabela 7.

TABELA 14: TENSÃO DE RUPTURA, DISTÂNCIA E DUREZA DE ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	Tensão de ruptura, kg	Distância, mm	Dureza, kg/seg
	19 dias de idade		
Programas			
Controle + PA	0,24	9,93	0,98
Aditivo + PA	0,21	10,60	0,90
Controle + VA	0,22	10,35	0,88
Aditivo + VA	0,20	10,56	0,89
Condição sanitária			
Sem desafio	0,22	9,77 ^b	0,89
Com desafio	0,22	10,95 ^a	0,93
CV%	25,32	26,10	31,11
p-valor			
Programas	0,2694	0,8405	0,5691
Desafio	0,7522	0,0454	0,5313
Programas x desafio	0,2784	0,1076	0,5963

28 dias de idade			
Programas			
Controle + PA	0,34	26,20	2,35
Aditivo + PA	0,34	24,21	2,35
Controle + VA	0,37	26,11	2,69
Aditivo + VA	0,34	24,25	2,54
Condição sanitária			
Sem desafio	0,35	25,37	2,52
Com desafio	0,35	23,51	2,45
CV%	22,89	36,04	29,38
p-valor			
Programas	0,3714	0,1814	0,3224
Desafio	0,9760	0,3027	0,6369
Programas x desafio	0,3049	0,2643	0,1632

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

Não foi observado efeito significativo dos programas de controle e do desafio sanitário sobre a oxidação lipídica (concentração média de malonaldeído) da mucosa do aos 19 e 28 dias de idade (Tabela 15). Esses resultados demonstram que os programas preventivos para coccidiose foram efetivos e as aves provavelmente estavam em homeostasia orgânica, uma vez que, a oxidação descontrolada leva ao dano e morte celular (LITTLE e GARDEN, 1999). Cowieson et al. (2020) avaliaram oxidação lipídica da mucosa intestinal em frangos vacinados e desafiados e não encontraram efeito ($P > 0,05$) para MDA comparado com grupo controle.

TABELA 15: OXIDAÇÃO LIPÍDICA – TBARS DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	mg/MDA/g 19 dias	mg/MDA/g 28 dias
Programas		
Controle + PA	0,58	0,84
Aditivo + PA	0,63	0,94
Controle + VA	0,61	0,85
Aditivo + VA	0,60	0,92
Condição sanitária		
Sem desafio	0,59	0,88
Com desafio	0,62	0,90
CV%	17,33	17,08
p-valor		
Programas	0,7053	0,2865
Desafio	0,4636	0,6680
Programas x desafio	0,6473	0,9253

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

Análises de atividade antioxidante, utilizando os radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (butilhidroxitolueno) são utilizados para verificar a capacidade sequestradora de radicais livres de muitos produtos, operando assim contra os efeitos prejudiciais de processos de oxidação lipídica (LI et al., 2011).

Em relação aos resultados das avaliações séricas da capacidade antioxidante do radical DPPH, aves que receberam o programa de vacina anticoccidiana acrescidas do aditivo nutricional aos 19 dias de idade, apresentaram maior ($P < 0,05$) capacidade antioxidante sérica de DPPH, comparado com o uso da vacina sem a suplementação do aditivo. Os demais tratamentos não diferiram entre si. Para atividade antioxidante sérica (radical ABTS) o programa anticoccidiano e aditivo apresentaram menor ($P < 0,05$) concentração sérica do radical ABTS, comparado com as aves que receberam vacina e aditivo. Os demais tratamentos não diferiram entre si (Tabela 16).

A vacina foi administrada no primeiro dia de vida das aves e de acordo com o resultado da contagem de oocistos aos 21 dias, o tratamento vacina e aditivo (Tabela 24), demonstrou que houve o pico de excreção das eimerias vacinas nesse período, ou seja, houve pelo menos 3 ciclos endógenos da vacina no epitélio intestinal aos 19 dias. Assim sendo, a alta atividade sequestradora detectado no sangue das aves vacinadas pode ser explicada pela composição de cepas atenuadas por precocidade com capacidade reprodutiva nos enterócitos reduzida, ou seja, mantem a integridade e saúde da mucosa intestinal e impactou positivamente na capacidade de proteção antioxidante e a dieta acrescida do aditivo nutricional auxiliou a integridade intestinal, devido sua capacidade antioxidante.

TABELA 16: CAPACIDADE ANTIOXIDANTE SÉRICA DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	DPPH 19 dias	DPPH 28 dias	ABTS 19 dias	ABTS 28 dias
Programas				
Controle + PA	8,74 ^{ab}	8,51	7,09 ^{ab}	3,53
Aditivo + PA	8,52 ^{ab}	7,62	6,28 ^b	4,26
Controle + VA	8,28 ^b	9,01	7,55 ^{ab}	4,81
Aditivo + VA	9,83 ^a	9,74	7,98 ^a	3,83
Condição sanitária				
Sem desafio	9,08	8,99	7,14	4,46
Com desafio	8,63	8,45	7,31	3,77
CV%	15,09	20,90	20,57	34,45
p-valor				

Programas	0,0436	0,0739	0,0594	0,1536
Desafio	0,2611	0,3247	0,6948	0,0998
Programas x desafio	0,5195	0,6410	0,6974	0,9587

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

A tabela 17 demonstra os resultados de coloração da pele do peito, houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o índice L^* aos 19 dias. O programa vacina resultou em maior valor L^* em comparação ao programa anticoccidiano. Entretanto, com a presença do aditivo nutricional nos programas anticoccidiano e vacina não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). Aos 28 dias, duas semanas após o desafio, foi observado maior ($P < 0,05$) índice L^* para grupo de aves desafiadas em relação às não desafiadas. Para o índice b^* , houve interação significativa entre os programas de controle e a condição sanitária.

No desdobramento da interação da tabela 18, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos no grupo controle. Para o grupo desafiado, observou-se maior ($P < 0,05$) valor de b^* para pele do peito das aves que receberam programa anticoccidiano comparado com o programa vacina. Entretanto, quando o aditivo foi incluído em ambos os programas, não houve diferença significativa. Considerando as diferenças dentro de cada tratamento, observou-se que somente o tratamento composto pelo programa vacina sem a inclusão do aditivo resultou em menor valor do índice b^* para grupo desafiado.

Para a avaliação da cor os pés, aos 19 dias, houve interação significativa entre o programa de controle e a condição sanitária a qual as aves foram submetidas. No desdobramento da interação (Tabela 19), o grupo controle que recebeu o programa com a vacina associado com aditivo, resultou em maior coloração de pés, comparado com o tratamento anticoccidiano. Considerando as diferenças dentro de cada tratamento, observou-se que o programa composto por vacina acrescido de aditivo resultou em menor coloração de pés. Porém o efeito oposto foi observado com a utilização de um programa anticoccidiano isento de aditivo. Já aos 28 dias, para análise de cor de pés, houve menor ($P < 0,05$) coloração para as aves que foram desafiadas, independente do programa utilizado.

A absorção do pigmento incluído na ração de todas as aves (Lucantin yellow 10%) ocorre no epitélio ciliar do intestino médio e, para que feita

corretamente, é necessário que seja realizado um processo de hidrólise enzimática das xantofilas que entram com a dieta na forma de ésteres de ácidos graxos. Entretanto, para que o processo seja efetivo, exige-se um estado de saúde da mucosa intestinal, que deve estar livre de doenças como enterite necrótica ou lesões de coccidiose aviária.

Segundo Pantoja e Gonzales (2020), a pigmentação é um processo cumulativo e esses autores encontraram maior pigmentação na pele de aves vacinadas comparados com aquelas que receberam programa anticocciano aos 35, 42 e 49 dias. Dessa forma, considerando que a vacina foi realizada no primeiro dia de vida da ave e que a idade de abate do estudo foi aos 28 dias, pode-se argumentar que se o estudo se prolongasse até os 42 dias de idade, talvez poderia ser observado o mesmo resultado obtido por esses autores.

O uso de aditivos na dieta de frangos de corte pode contribuir para manutenção da integridade intestinal, assim como realçar a cor amarela dos pés de frangos. Pantoja et al. (2020) avaliaram a eficácia de vacina atenuada por precocidade combinada com ácidos graxos de cadeia curta e média em aves submetidas a um modelo de infecção experimental de enterite necrótica e *E. maxima* e concluíram que a associação da vacina e ácidos orgânicos reduziu as lesões intestinais causadas pelo desafio.

TABELA 17: COLORAÇÃO DE PELE DO PEITO E PÉS DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	19 dias de idade			Cor dos pés
	*L	*a	*b	
Programas				
Controle + PA	58,54 ^b	6,98	2,18	3,95
Aditivo + PA	58,89 ^{ab}	6,74	2,16	4,12
Controle + VA	59,88 ^a	6,53	2,34	4,04
Aditivo + VA	59,01 ^{ab}	6,50	1,92	4,31
Condição sanitária				
Sem desafio	58,50 ^b	6,80	1,93	4,17
Com desafio	59,66 ^a	6,57	2,22	4,31
CV%	3,10	18,34	57,73	14,74
p-valor				
Programas	0,0186	0,3487	0,0882	0,2156
Desafio	0,0003	0,2793	0,1558	0,2435
Programas x desafio	0,1804	0,1710	0,2977	0,0191
	28 dias de idade			
Programas				
Controle + PA	60,16	6,59	4,55	4,37

Aditivo + PA	59,37	7,26	3,95	4,50
Controle + VA	60,49	6,64	3,44	4,13
Aditivo + VA	60,25	6,55	3,63	4,12
Condição sanitária				
Sem desafio	58,99 ^b	7,30 ^a	4,22	4,42 ^a
Com desafio	61,14 ^a	6,22 ^b	3,57	4,14 ^b
CV%	3,23	28,39	47,30	
p-valor				14,36
Programas	0,1425	0,3487	0,0655	0,1109
Desafio	<,0001	0,0010	0,0373	0,0320
Programas x desafio	0,4075	0,7255	0,0534	0,0815

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

TABELA 18: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO PARA VARIÁVEL B* DA PELE DE PEITO DE FRANGOS DE CORTE AOS 28 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle + PA	Aditivo + PA	Controle + VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	4,44	4,37	4,43 ^a	3,62	0,4785
Com desafio	4,65 ^a	3,53 ^{AB}	2,45 ^{Bb}	3,63 ^{AB}	0,0087
p-valor	0,7431	0,2307	0,0013	0,9833	

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha diferem entre si. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

TABELA 19: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DA COR DOS PÉS DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle +PA	Aditivo + PA	Controle +VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	3,66 ^{Bb}	4,33 ^{AB}	4,08 ^{AB}	4,63 ^{Aa}	0,0047
Com desafio	4,18 ^a	3,90	4,00	4,0 ^b	0,8060
p-valor	0,0351	0,2201	0,7193	0,0263	

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha diferem entre si. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

Em relação aos níveis séricos de FITC-d no sangue de frangos de corte aos 19 dias de idade, observou-se interação significativa entre os programas de controle e a condição sanitária (Tabela 20). Ao desdobrar a interação foi possível verificar que o uso da vacina como programa de controle isento de aditivo apresentou menor valor de FITC-d quando as aves foram desafiadas. Entretanto, quando utilizado aditivo juntamente com a vacina não houve efeito significativo (P>0,05).

Em estudos de avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal, utiliza-se essa técnica que tem como princípio o fato que FITC-d normalmente não é absorvido do enterócito para a corrente sanguínea quando há perturbação das condições normais do trato gastrointestinal (TGI), a exemplo da ação de agentes agressores, ocorrem danos/lesões ao epitélio que geram perturbações às junções celulares (tight junctions). Consequentemente, esse “afrouxamento” das ligações celulares aumenta a permeabilidade intestinal e isso é prejudicial ao organismo, visto que torna possível a infiltração de microrganismos à corrente sanguínea possibilitando ocorrer, com maior probabilidade, casos de infecções por agentes oportunistas.

Uma possível explicação para o efeito inverso observado no presente estudo é que as espécies de *Eimeria spp* infectam os enterócitos e iniciam seus processos de desenvolvimento dentro dessas células e de acordo com Conway e Mekenzie (2007) um esporozoíto penetra uma célula intestinal e origina um esquizonte de segunda geração, capaz de gerar 2.520.000 merozoítos, isto é, o enterócito aumenta de tamanho, o que pode justificar a menor passagem de FITC-d no grupo de aves desafiadas. Outro ponto importante é que a coleta do FITC-d foi realizada aos 19 dias, 5 dias após o desafio, assim sendo, uma possibilidade para avaliar a relação dessa análise com desafio entérico com vacina de coccídea seria a realização na fase de recuperação ao desafio.

Para contagem de células PCNA-positivas na cripta da mucosa do jejuno de frangos de cortes não foi afetada pelos programas de controle independentemente da condição sanitária (Tabela 20). As células PCNA-positivas são células que expressam antígenos da fase G1 tardia e durante a fase S do ciclo celular. Esta técnica utiliza anticorpos monoclonais contra antígenos específicos de células proliferativas, e é uma das formas de fazer a avaliação da proliferação celular, permitindo medições acuradas sem a necessidade da administração de nenhuma substância ao animal em estudo (RABENHORST et al, 1993).

Uma vez que o aditivo utilizado contém ácido butírico em sua composição, esperava-se um número mais elevado de células marcadas, indicando um maior número de células em proliferação. Na avaliação da profundidade da cripta da

mucosa do jejuno (Tabelas 10 e 11) também não foi observado efeito do aditivo nesse parâmetro.

A rápida proliferação de células epiteliais é fundamental na reposição do epitélio intestinal, enquanto a profundidade da cripta é um indicativo da capacidade compensatória ou hiperplasia das células epiteliais em virtude de um maior nível de agressão à estrutura morfológica da mucosa intestinal causada pelo desafio entérico (UNI et al., 1998).

TABELA 20: NÍVEIS SÉRICOS DE FITC-D E CONTAGEM DE CÉLULAS EM MITOSE DO JEJUNO DE FRANGOS DE CORTE AOS 19 DIAS, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	FITC-d ($\mu\text{g/mL}$)	Células em mitose/ mm^2
Programas		
Controle + PA	0,20	0,625
Aditivo + PA	0,24	0,623
Controle + VA	0,24	0,687
Aditivo + VA	0,22	0,732
<i>Condição sanitária</i>		
Sem desafio	0,27	0,667
Com desafio	0,18	0,670
CV%	27,49	30,17
<i>p-valor</i>		
Programas	0,4396	0,2549
Desafio	<,0001	0,9416
Programas x desafio	0,0387	0,8711

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

TABELA 21: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DE FITC-D PARA FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				p-valor
	Controle +PA	Aditivo + PA	Controle +VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	0,22	0,27	0,33 ^a	0,27	0,0816
Com desafio	0,19	0,21	0,15 ^b	0,18	0,3427
p-valor	0,4223	0,1302	0,0009	0,0564	

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

Em relação ao escore de lesão intestinal, observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) para *Eimeria tenella* aos 19 dias de idade. O uso do programa anticoccidiano sem inclusão do aditivo nutricional resultou no maior escore de lesão para *E. tenella*, comparado com uso da vacina anticoccidiana sem o aditivo. Os demais programas não diferiram entre si. Em relação ao desafio

entérico, independente do tratamento aves desafiadas apresentaram maior ($P < 0,05$) escore para *E. máxima* do que grupo controle aos 19 dias (Tabela 22).

Não foi observado escore de lesão intestinal aos 28 dias, demonstrando que houve recuperação das aves, duas semanas após o desafio entérico, independentemente do programa de controle utilizado.

O uso de vacinas para o controle da coccidiose em frangos de corte ainda é pouco difundido no Brasil e encontra resistência ao seu uso decorrentes de resultados não satisfatórios em estudos iniciais com o uso de vacinas compostas de cepas selvagens (oocistos não atenuados) que se mostraram ineficientes promovendo uma descrença em sua utilização, devido seu perfil extremamente agressivo e efeito maléfico aos animais, com lesões significativas na mucosa intestinal e conseqüentemente perda de desempenho zootécnico (FABRI et al., 2019). Com os novos estudos, as vacinais atuais passaram a ser produzidas com tecnologias mais modernas e com cepas atenuadas, buscando mitigar tais problemas.

Fato esse que é confirmado com os resultados obtidos nesta pesquisa, onde o uso da vacina contra coccidiose em frangos corte é efetivo, uma vez que a vacina utilizada não apresentou lesões agressivas como as do passado, mostrando sua eficácia, segurança e manutenção da saúde e integridade intestinal. Vacinas de última geração com todas as cepas de *Eimeria* atenuadas por precocidade, possuem capacidade de formação da imunidade celular completa de forma efetiva e precoce, com mínimo de dano à parede intestinal para formação da imunidade sem diminuição do desempenho produtivo das aves.

TABELA 22: ESCORE DE LESÃO INTESTINAL E COR DOS PÉS DE FRANGOS DE CORTE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	<i>E. acervulina</i>		<i>E. maxima</i>		<i>E. tenella</i>	
	19 dias	28 dias	19 dias	28 dias	19 dias	28 dias
Programas						
Controle + PA	0	0	0,40	0	0,54 ^a	0
Aditivo + PA	0	0	0,62	0	0,20 ^{ab}	0
Controle + VA	0	0	0,25	0	0,16 ^b	0
Aditivo + VA	0	0	0,50	0	0,20 ^{ab}	0
Condição sanitária						
Sem desafio	0	0	0,29 ^b	0	0,20	0
Com desafio	0	0	0,59 ^a	0	0,35	0
CV%	0	0	162,92	0	161,18	0
p-valor						
Programas	0	0	0,3475	0	0,0173	0
Desafio	0	0	0,0537	0	0,1186	0
Programas x desafio	0	0	0,4248	0	0,3982	0

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).
PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

A contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) aos 21 dias de idade, portanto, uma semana após o desafio foi influenciada pela interação entre os programas de controle e a condição sanitária (Tabela 23). O desdobramento da interação (Tabela 24), demonstrou que para o grupo controle não foram observadas diferenças significativas entre os programas. Para o grupo desafiado, observou-se maior ($P < 0,05$) número de OoPG para programa vacinal acrescido de aditivo comparado ao programa anticoccidiano acrescido ou não de aditivo. A ausência do aditivo no programa vacina não diferiu dos demais programas. Considerando as diferenças dentro de cada programa, observou-se que para todos, com exceção do programa composto por vacina, o desafio resultou em maiores valores de OoPG. Segundo Gregory et al. (1983) o efeito da infecção por *Eimeria* é dependente, principalmente do nível de contaminação do ambiente, o que justifica as maiores contagens para o grupo desafiado.

Já para OoPG de 28 dias, observou-se maior ($P < 0,05$) contagem para aves vacinadas sem a inclusão do aditivo, comparado com o programa anticoccidiano acrescido ou não com aditivo, porém com a inclusão do aditivo no programa vacina não houve diferença em relação aos demais programas.

A eliminação de oocistos nas fezes nas primeiras duas semanas de vida das aves são baixas, devido aumento gradual do ciclo de vida das *Eimeria spp*, mas geralmente atinge o pico, ou seja, número máximo de oocistos entre 21 e

28 dias de idade (CERUTI et al., 2005). Após o pico de excreção da vacina o número diminui acentuadamente, indicando imunidade (WILLIAMS e GOBBI, 2002). Isso explica o comportamento de excreção de oocistos ser maior os 21 dias em relação aos 28 dias para ambos os programas, devido a cinética de eliminação de oocistos observado ao pico de eliminação no sétimo dia após o desafio. A queda no resultado de OoPG aos 28 dias e resposta positiva do desempenho produtivo (Tabela 10) de ambos os tratamentos, corresponde ao efeito satisfatório dos métodos de controle preventivos utilizados para infecção imposta para aves aos 14 dias de idade.

De acordo com Parent et al. (2018) o intervalo de contagens de OoPG em aves desafiadas que recebem o programa anticoccidiano é maior do que frangos vacinados contra coccidiose. Isso pode explicar o número maior de oocistos encontrado para as aves vacinadas e desafiadas, já que o ciclo de replicação para anticoccidiano pode ser mais longo. Em lotes que receberam vacina contra coccidiose, os primeiros oocistos apareceram 13 a 20 dias mais cedo comparado com lotes que receberam produto anticoccidiano, indicando que vacinas que possuem processo de atenuação precoce contribuem para desenvolvimento mais rápido da imunidade celular (WILLIAMS e GOBBI, 2002b).

As aves que receberam programa anticoccidiano do grupo controle não excretaram oocistos. Tal resultado era esperado devido ambiente da condição experimental não apresentar exposição dos animais aos parasitas de campo e pelo modo de ação do produto utilizado. O fato dos animais com o tratamento de anticoccidiano do grupo controle não eliminar nenhum oocisto durante o estudo, confirma que não houve contaminação cruzada entre os grupos do estudo nas instalações. Williams e Gobbi, (2002) demonstram resultados semelhantes ao estudo, pois ao realizarem OoPG de fezes de frangos de corte que receberam o programa controle de coccidiose com uso de droga anticoccidiana, detectaram oocistos pela primeira vez com 34 dias de idade.

Ingestão de uma dose muito alta de vacina pode causar um impacto negativo direto na conversão alimentar ou até mesmo lesões clínicas de coccidiose (CHAPMAN, 2002). Importante mencionar que o tratamento vacina apresentou pico de eliminação de oocistos mais expressivo em relação ao tratamento anticoccidiano e mesmo assim não apresentaram queda no

desempenho ou lesões significativas. O número de oocistos encontrado no OPG de 21 a 28 dias no experimento foi dentro do limite esperado, considerado para vacina viva atenuada por precocidade e ausência de exposição a coccidiose de campo. De acordo com Dardi et al. (2015) um número de oocistos acima de 60.000 Oocistos/grama de fezes é indicativo de desafio. Tal fato permite comprovar que o procedimento de vacinação no incubatório foi efetivo e uniforme e também houve continuação do ciclo vacinal nas gaiolas.

Snyder et al (2021) avaliando valores de OoPG em lotes com uso de anticoccidiano observaram menor OPG comparados com lotes vacinados contra coccidiose. O mesmo comportamento foi verificado no estudo de Gautier e et al. (2020) que relataram baixo número de oocistos em aves que receberam anticoccidiano na ração comparado com aves vacinadas durante todo experimento.

As aves submetidas à vacinação apresentaram desempenho produtivo similar aos resultados do programa anticoccidiano. Este é um bom indicativo de que a imunidade gerada pelas cepas vacinais foi suficiente para proteger as aves contra a parasitose. Também é possível inferir que as aves foram expostas de forma adequada aos oocistos vacinais e, que as reinfecções posteriores nas gaiolas, necessárias a formação da imunidade celular, sucederam de forma satisfatória, resultando em excelente desempenho final.

Pode-se observar que a inclusão do aditivo na dieta não influenciou a contagem de oocistos (com exceção do tratamento vacina aos 28 dias). Indicando que esse parâmetro é mais influenciado pelo método de controle utilizado contra a coccidiose e o nível de exposição da ave ao parasita.

TABELA 23: OOPG DE FEZES DE FRANGOS DE CORTE DE 21 E 28 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

	21 dias	28 dias
Programas		
Controle + PA	2241,66	16,66 ^b
Aditivo + PA	933,33	25,00 ^b
Controle + VA	15841,66	2616,66 ^a
Aditivo + VA	26216,66	1841,66 ^{ab}
Condição sanitária		
Sem desafio	429,16	866,66
Com desafio	22187,50	1383,33
CV%	147,61	226,52
Programas	0,0014	0,0338
Desafio	<,0001	0,4865
Programas x desafio	0,0020	0,0822

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana

TABELA 24: DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO DE OOPG DE FRANGOS DE CORTE DE 21 DIAS DE IDADE, SUPLEMENTADOS OU NÃO COM ADITIVO NUTRICIONAL, VACINADOS CONTRA COCCIDIOSE OU NÃO E SUBMETIDOS OU NÃO AO DESAFIO ENTÉRICO

Condição sanitária	Programas				Valor de p
	Controle +PA	Aditivo + PA	Controle +VA	Aditivo + VA	
Sem desafio	0 ^b	0 ^b	1366,67	350 ^b	0,1247
Com desafio	4483,33 ^{Ba}	1866,67 ^{Ba}	30317 ^{AB}	52083 ^{Aa}	0,0041
Valor de p	0,0126	0,0130	0,0628	0,0031	

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha diferem entre si. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

PA: programa anticoccidiano, VA: vacina anticoccidiana.

4 CONCLUSÕES

O grupo de aves desafiadas, independente dos programas utilizados, apresentou menor desempenho produtivo, alterações morfométricas na mucosa dos segmentos intestinais, pigmentação de pés e pele do peito e escore de lesão comparado com o controle

O programa anticoccidiano e a vacina quando associados a um aditivo nutricional apresentaram resultados de desempenho produtivo, medidas morfométricas de profundidade de cripta, variável b^* (pigmentação amarelo) para pele do peito semelhantes, demonstrando a efetividade em ambos os programas.

A associação de aditivo e vacina apresentou maior capacidade antioxidante sérica comparado com o programa anticoccidiano associado ao aditivo.

O comportamento de excreção de oocistos demonstra que o programa vacina conferiu imunidade celular precoce e efetiva em aves submetidos ou não a um desafio entérico e ambos os programas de controle da coccidiose foram efetivos.

O programa anticoccidiano apresentou maior escore de lesão para *E.tenella*

Os programas de controle e as condições sanitárias não influenciaram a oxidação lipídica- MDA e a contagem de células em mitose na cripta da mucosa do jejuno.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle da coccidiose em frangos de corte com uso de vacina atenuada por precocidade pode ser uma alternativa eficaz e segura e capaz de proporcionar desempenho zootécnico semelhante aquele obtido com o programa anticoccidiano em situações de desafio ou não, uma vez que as cepas vacinais utilizaram apresentam baixo nível de replicação nas células da mucosa intestinal e assim é possível formar imunidade precoce e efetiva sem apresentar efeito prejudicial sobre a integridade e saúde do intestino, possibilitando máxima absorção de nutrientes e conseqüentemente resultados zootécnicos semelhantes ao programa anticoccidiano.

O uso de um aditivo nutricional com ácidos graxos de cadeia curta e média pode ser usado em associação com programa anticoccidiano para potencializar os resultados.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal, **Relatório Anual**, 2021.
- CERUTI, R.; FERRAZZI, V.; GAVAZZI, L. Efficacy in the field of two anticoccidial vaccines for broilers. **Italian Journal animal science**. v.4, p.259-262, 2005.
- CERVANTES, H.M. Antibiotic-free poultry production: is it sustainable? **The Journal of Applied Poultry Research**. v.24:91–97, 2015.
- CHAPMAN, H. D. Controle de coccidiose sustentável em aves produção: o papel das vacinas vivas. **Int. J. Parasitol.** v. 32, 617-629, 2002.
- CONWAY, D.O.; MCKENZIE, M.E. **Poultry coccidiosis**: diagnostic and testing procedures. 3rd ed, p.8-11, 2007.
- CORPET, D.R. Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les adifs alimentaires antibiotiques. **Revue de Médecine Vétérinaire**. n.151, p.99–104, 2000.
- COWIESON, J.A.; LIVINGSTON, L.M.; NOGAL, B.; HOANG, V.; WANG, Y.T.; CRESPO, R.; LIVINGSTON, K. A. Effect of coccidial challenge and vaccination on the performance, veterinary postmortem scores, and blood biochemistry of broiler chickens. **Poultry Science**. v.99, p.3831–3840, 2020.
- DALLOUL, R.A.; LILLEHOJ, H.S. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. **Avian diseases**.v.49,n.1, p.1-8, 2005.
- DARDI, M. Can we enhance pecking and preening for oocyst ingestion in coarse spray vaccination against coccidiosis? **Eimeria prevention**. 2016. Disponível em: <<https://eimeriaprevention.com/enhancing-pecking-and-preening-for-oocyst-ingestion-in-coarse-spray-vaccination-against-coccidiosis/>>. Acesso em: 13 de janeiro de 2021.
- DARDI, M.; PAGÈS, M.; RUBIO, J.; MATHIS, G. F.; DE GUSSEM, M. Anticoccidial Sensitivity test (AST) results from a farm vaccinated for three consecutive flocks with a coccidiosis vaccine. **XIX World Veterinary Poultry Association Congress**. Cape Town, South Africa. p.158, 2015.
- FABRI, F.; CANTADOR, F.; OLIVEIRA, C.B.; SASS, N.; KOLLMANN, J.; MARQUES, R.; DARDI, M.; SOARES, L.; PANTOJA, L. Reviewing coccidiosis control concepts with the use of live attenuated vaccines and increasing profitability with sustainability: Results on farms in Brazil. **AVINEWS BRASIL**, 2020. Disponível em: <<https://avicultura.info/pt-br/controle-da-coccidiose-com-vacina-viva-atenuada/>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2021.
- GAUTIER, A.; LATORRE, J.; MATSLER, P. *et al.* Longitudinal Characterization of Coccidiosis Control Methods on Live Performance and Nutrient Utilization in Broilers. **Frontiers in Veterinary Science**. v.6, p.468, 2020.
- GADDE, U.; OH, S.T.; LEE, Y.S.; DAVIS, E.; ZIMMERMAN, N.; REHBERGER, T.; LILLEHOJ, H.S. The effects of direct-fed microbial supplementation, as an

alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immune status, and epithelial barrier gene expression in broiler chickens. **Probiotics Antimicrob Proteins**. v.9, n.4, p.397–405, 2017.

GREGORY, M.W.; CATCHPOLE, J.; JOYNER, L.P.; PARKER, B.N.J. Observations on the epidemiology of coccidial infections in sheep under varying conditions of intensive husbandry including chemoprophylaxis with monensin. **Parasitology**. v.87, p.421-427, 1983.

HANKEL, J.; POPP, J.; MEEMKEN, D.; ZEIGER, K.; BEYERBACH, M.; TAUBE, V. Influence of lauric acid on the susceptibility of chickens to an experimental *Campylobacter jejuni* colonisation. **PLoS ONE**. v.13, 9, 2018.

HARDER, M.N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; ARTHUR, V. Quantitative evaluation by a digital colorimeter of the color of the egg of laying hens fed with annatto. **Revista portuguesa ciências veterinárias**. v.102, n.563-564. p.339-342, 2005.

INNES, A.E.; VERMEULEN, N.A. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. **Parasitology**. v.133, p.145–168, 2006.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 13a edição. Ed. Guanabara Koogan. 2018.

KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A.; KLOTERHALFEN, B.; SCHUMPELICK, V. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical Experimental Medicine**. v. 2, p. 131 – 135, 2002.

LI, P.; HUO, L.; SU, W.; LU, R.; DENG, C.; LIU, L.; DENG, Y.; GUO, N.; LU, C.; HE, C. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. **Journal of the Serbian Chemical Society**. v. 76, n. 5, p. 709-717, 2011.

LITTLE, R.E.; GLADEN, B.C. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy a review of the literature. **Reproductive Toxicology**. V.13, p.347-352, 1999.

MARIEN, M.; DE GUSSEM, M.; VANCRAEYNEST, D.; FORT, G.; NACIRI, M. Indication of cross-resistance between different monovalent ionophores as determined by an anticoccidial sensitivity test (AST) 16^o 16th European **Symposium on Poultry Nutrition**. Corpus ID: 53321917, 2007.

MATHIS, G.F.; LANG, M. The influence of the coccidiosis vaccine, Coccivac-B, on compensatory weight gain of broiler chickens in comparison with the anticoccidial, salinomycin. **In: Vllth International Coccidiosis Conference**; Palm Cove, Sydney, Australia. p. 113, 2001.

MCBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. **Journal of Animal Science** 1990; 68: 2997- 3010.

MCKNIGHT, L.L.; PEPPLER, W.; WRIGHT, C.D.; PAGE, G.; HAN, Y. **Poultry Science**. v. 98, p.4901–4908, 2019.

NEWMAN, L.J. Coccidiosis control with vaccine: been there, done that. Or have we? In: **Arkansas Poultry Symposium**; Springdale, Arkansas. p. 52-55, 1999.

PANTOJA, L.; GONZÁLEZ, O. Saúde Intestinal e pigmentação do frango de corte. Acesso em: <<https://nutrinewsbrasil.com/saude-intestinal-e-pigmentacao-do-frango-de-corte/>>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2021.

PANTOJA, L.; DARDI, M.; ELLEN VAN EERDEN, V.E. Uma vacina atenuada contra a coccidiose pode proteger os frangos de corte submetidos a um desafio de enterite necrótica. Disponível em: <<https://nutrinewsbrasil.com/vacina-atenuada-contr-a-coccidiose-pode-protoger-os-frangos-de-corte-submetidos-a-um-desafio-de-enterite-necrotica-2/>>. Acesso em: 12 de janeiro de 2021.

PARENT, E.; FERNANDEZ, D.; BOULIANNE, M. The use of a live non-attenuated coccidiosis vaccine modifies Eimeria spp. excretion in commercial antibiotic free broiler chicken flocks compared to conventional shuttle anticoccidial programs. **Poultry Science**. v.97, n.8, p.2740-2744, 2018.

PEEK, W.H.; LANDMAN, M.J.W. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. **Veterinary Quarterly**. v. 31, n.3, p.143, 2011.

PINHEIRO, B.; DA SILVA, A.; CAVALCATE, M.; MENDONÇA, I. e CONDE JÚNIOR, A. Coccidiose em Frangos de Produção. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Ano XII, Núm. 22. 2014.

RABENHORST, S.H.; BURINI, R.C.; SCHMITT, F.C.L. Marcadores da proliferação celular. **Rev. bras. patol. Clín.** v.29, n.1, p.24-29, 1993.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Atividade antioxidante aplicando um ensaio de descoloração de cátion radical ABTS aprimorado. **Biologia e Medicina Radicais Livres**. v.26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

RONSMANS, S.; VAN ERUM J.; DARDI, M. The use of a live coccidiosis vaccine in rotation with anticoccidial feed additives: Results from the belgian field. **XIX world veterinary poultry association congress**. p.158, 2015.

RONSMANS, S.; FLAMENT A.; VAN ERUM, J.; DARDI, M.; RUBIO J. Reduction of antibiotic treatments in broilers by the use of a live Coccidiosis vaccine in rotation with anticoccidial feed additives: Results from the Belgian field. **XIX World Veterinary Poultry Association Congress**. p.876-880, 2015.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa, 2007. (Comunicado Técnico)**.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep. p.283, 2007.

SOUZA, T.J.T.; APEL, M.A.; BORDIGNON, S.; MATZENBACHER, N.I.; ZUANAZZI, J.A.S.; HENRIQUES, A.T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Rev Bras Farmacogn**. n.17, p.368-37, 2007.

SHIRZAD, M.R.; SEIFI, S.; GHEISARI, H.R.; HACHESOO, B.A.; HABIBI, H.; BUJMEHRANI, H. Prevalence and risk factors for subclinical coccidiosis in broiler chicken farms in Mazandaran province Iran. **Tropical Animal Health and Production**. v.43, n.8, p.1601-1604, 2011.

SNYDER, P.R.; GUERIN, T.M.; HARGIR, M.B.; PAGE, G.; BARTA, J.R. Monitoring coccidia in commercial broiler chicken flocks in Ontario: comparing oocyst cycling patterns in flocks using anticoccidial medications or live vaccination. **Poultry Science**. v.100, p.110-118, 2021.

UNI, Z. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chicken small intestine. **British Poultry Science**.v. 41. p. 410-415, 2000.

UNI, Z.; PLATIN, R.; SKLAN, D. A proliferação celular no epitélio intestinal de galinha ocorre tanto na cripta como ao longo da vilosidade. **J Comp Physiol B**. v.168, 241–247,1998.

VAN DEUN, K.; HAESBROUCK, F.; VAN IMMERSEEL, F.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F. Short chain fatty acids and L-lactate as feed additives to control *Campylobacter jejuni* infections in broilers. **Avian Pathology**. v.37, p.379-383, 2008.

VAN IMMERSEEL, F.; RUSSELL, J.B.; FLYTHE, M.D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. O uso de ácidos orgânicos para combater *Salmonella* em aves: uma explicação mecanicista da eficácia. **Avian Pathology**. v.35, n.3, p.182-188, 2006.

VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; MONTESCHIO, J. D. O.; VALERO, M. V.; CARVALHO, C. B.; ABREU FILHO, B. A.; MADRONA, G. S.; PRADO, I. N. Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. **PLoS ONE**. v.11, n.8, 2016.

WILLIAMS, B.R.; L. GOBBI, L. Comparison of an attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial drug programme in commercial broiler chickens in Italy. **Avian Pathology**. v.31, n.3, p. 253-265, 2002.

YANG, X.; LIANG, S.; FANGSHEN, G.; REN, Z.; YANG, X.; LONGY, F. Immunology, health and disease: Gut microbiota mediates the protective role of *Lactobacillus plantarum* in ameliorating deoxynivalenol induced apoptosis and intestinal inflammation of broiler chickens. **Poultry Science**. v.99, p.2395-2406, 2020.