



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALISSON GUSTAVO ROTTER

EFEITO DE SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE
INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS
EXPERIMENTALMENTE

Palotina, 2021

ALISSON GUSTAVO ROTTER

EFEITO DE SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal, área de concentração Produção Animal, linha de pesquisa em Nutrição e Produção Avícola, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

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

Palotina, 2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R851 Rotter, Alisson Gustavo
Efeito de simbiótico sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos de corte experimentalmente desafiados / Alisson Gustavo Rotter – Palotina, 2021.
75f.

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

1. Microbiota. 2. Simbiótico. 3. Melhoradores de desempenho.
I. Fernandes, Jovanir Inês Müller. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.5



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 **ALISSON GUSTAVO ROTTER** intitulada: **EFEITO DE SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE**, sob orientação da Profa. Dra. JOVANIR INÊS MÜLLER FERNANDES, que após terem inquirido o aluno 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, 29 de Julho de 2021.

Assinatura Eletrônica

03/08/2021 16:58:32.0

JOVANIR INÊS MÜLLER FERNANDES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

04/08/2021 08:12:48.0

JOSÉ ROBERTO SARTORI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO - UNESP)

Assinatura Eletrônica

03/08/2021 15:11:50.0

GERALDO CAMILO ALBERTON

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

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: 104496

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 104496

AGRADECIMENTOS

É extremamente necessário agradecer, pois seguramente sem o devido auxílio seria praticamente impossível a realização e conclusão desta jornada.

Desta forma começo agradecendo sobretudo à Deus por ter me possibilitado a vida e sempre iluminar meus caminhos, mantendo-os cheios de bençãos.

À Universidade Federal do Paraná, aos docentes e colaboradores do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, principalmente à professora e orientadora Jovanir Inês Müller Fernandes pelos ensinamentos e orientações durante toda a jornada, e também por ser um grande exemplo profissional na minha caminhada, muito obrigado, eternamente serei grato.

À minha família, onde preciso nomear meus pais Nilson e Vânia que sempre me conduziram pelo caminho da honestidade, meus irmãos Ale e Andressa que sempre me apoiaram de maneira extrema em qualquer desafio assumido. Tenho certeza que sem eles eu não teria obtido êxito, portanto amo muito vocês.

À minha esposa Meiri, que sempre me apoiou e nunca questionou sobre as ausências necessárias para acompanhamento das atividades na Universidade, assim como as noites em claro para a conclusão desta dissertação. Muito obrigado.

Aos membros do Laboratório de Experimentação Avícola (LEA) e aos companheiros de pós-graduação, obrigado pelo companheirismo.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta de um programa nutricional isento de aditivos melhoradores de desempenho comparado a um programa com uso de simbióticos, em situação de desafio entérico ou não, sobre a saúde intestinal e o desempenho de frangos de corte. O experimento foi realizado no biotério de aves da UFPR Setor Palotina. Foram utilizados 864 pintos de corte, machos de 1 dia de idade, linhagem Cobb. As aves foram distribuídas aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 2 x 2 (2 dietas vs 2 condições sanitárias), totalizando 4 tratamentos com 12 repetições de 18 aves por gaiola, totalizando 48 unidades experimentais. Os tratamentos utilizados foram dieta controle (Dieta A); dieta controle + simbiótico (Dieta B); dieta A + desafio entérico e dieta B + desafio entérico. Aos 14 dias de idade, foi aplicado o desafio entérico com vacina comercial para coccidiose (20 vezes a recomendada pelo fabricante) seguido da inoculação contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™). O desafio entérico resultou em pior desempenho produtivo em todas as fases avaliadas, e alterou a morfometria da mucosa intestinal, cinco dias após o desafio. Aos 35 dias de idade, três semanas após o desafio entérico, observou-se um processo de regeneração já em resolução. A suplementação das dietas com o simbiótico melhorou a conversão alimentar das aves aos 28 dias de idade, independentemente do desafio experimental. A suplementação com simbiótico resultou em maior força de ruptura, dureza e elasticidade da mucosa intestinal do jejuno das aves. A suplementação de dietas para frangos de corte com simbiótico deve ser de forma contínua para assegurar a colonização e o equilíbrio da microbiota e resultar em melhor desempenho produtivo.

Palavras-chave: microbiota, simbiótico, melhoradores de desempenho.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the response of a nutritional program free of performance enhancing additives compared to a program with the use of synbiotics, in context of enteric challenge or not, on the intestinal health and zootechnical performance of broilers. The experiment was carried out in the poultry vivarium of UFPR Sector Palotina. A total of 864 broilers, 1-day-old male, Cobb lineage, were used. The broilers were randomly distributed in a completely randomized design, 2 x 2 factorial (2 diets vs 2 sanitary conditions), totaling 4 treatments with 12 replicates of 18 birds per cage, totaling 48 experimental units. The treatments used were control diet (Diet A); control + synbiotic diet (Diet B); diet A + enteric challenge and diet B + enteric challenge. At 14 days of age, the enteric challenge with a commercial coccidiosis vaccine (20 times that recommended by the manufacturer) was applied, followed by inoculation containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™). The enteric challenge resulted in worse productive performance in all evaluated phases and altered the morphometry of the intestinal mucosa, 5 days after the challenge. At 35 days of age, 3 weeks after the enteric challenge, it was observed a regeneration process in resolution. The supplementation of the diets with synbiotic improved feed conversion at 28 days of age independent of the experimental challenge. Synbiotic supplementation showed greater results in the parameters of strength, hardness and elasticity of the intestinal mucosa of the jejunum of birds. Supplementation of diets for broilers with synbiotic must be continuous to ensure colonization and balance of the microbiota and result in better productive performance.

Keywords: microbiota, synbiotic, performance enhancing additives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Imagens da mucosa do íleo de aves do grupo controle (A) e do grupo desafiado (B) 300 x.67

Figura 2: Concentração sérica do marcador FITC-Dextran administrado oralmente. Maiores concentrações sorológicas indicam maior permeabilidade intestinal Cada ponto do gráfico representa uma amostra, a linha vertical representa o desvio padrão amostral e a linha 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição nutricional das dietas experimentais.	51
Tabela 2: Desempenho produtivo de frangos de corte de 1 a 7 dias e de 7 a 14 dias de idade suplementados ou não com simbiótico	54
Tabela 3: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 14 a 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	55
Tabela 4: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 19 a 21 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	56
Tabela 5: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 14 a 21 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	57
Tabela 6: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 21 a 28 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	58
Tabela 7: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 1 a 28 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	58
Tabela 8: Morfometria da mucosa do duodeno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	60
Tabela 9: Morfometria da mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	61
Tabela 10: Morfometria da mucosa do íleo de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	62
Tabela 11: Morfometria da mucosa do duodeno de frangos de corte com idade de 35 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	63
Tabela 12: Morfometria da mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 35 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	64
Tabela 13: Morfometria da mcosa do íleo de frangos de corte com idade de 35 dias,	

suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	65
Tabela 14: Contagem de células PCNA positivas na mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico	68
Tabela 15: Níveis séricos de FITC-d de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.	69
Tabela 16: Tensão, elasticidade e dureza de intestino de frangos de corte aos 19 e 35 dias suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.....	70

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
LISTA DE FIGURA	6
LISTA DE TABELAS	7
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. INTEGRIDADE INTESTINAL	13
2.2. ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO	18
2.3. ADITIVOS NUTRICIONAIS	20
2.3.1. Prebióticos e probióticos	22
2.4. TENDÊNCIAS PARA A PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	31
REFERÊNCIAS	33
3. OBJETIVOS	45
3.1. OBJETIVO GERAL	45
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
CAPÍTULO 1 – EFEITO DO USO DE SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A UM DESAFIO ENTÉRICO	46
RESUMO	46
ABSTRACT	47
INTRODUÇÃO	47
MATERIAL E MÉTODOS	49
Delineamento experimental	49
Parâmetros dos desempenhos zootécnicos	50
Análises da morfometria da mucosa intestinal	50
Resistência e elasticidade da mucosa do intestino	52
Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal	52
Análise da capacidade proliferativa das células intestinais	53
Análise estatística	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
CONCLUSÃO	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira é extremamente importante para o país e da mesma forma a nível mundial. A afirmação pode ser comprovada pelos dados de produção da Associação Brasileira de Proteína Animal, que demonstram que no ano de 2020 o Brasil produziu aproximadamente 13.845 mil toneladas de carne de frango, perdendo apenas para os Estados Unidos e China, sendo que deste volume, 4.231 mil toneladas foram exportadas, tratando-se do principal exportador global de carne de frango (ABPA, 2021).

Segundo a FAO, o consumo mundial de carnes aumentará cerca de 10% até o ano de 2027, indicando que o crescimento anual deve ficar próximo de 1 a 1,5%, portanto é necessário possuir capacidade de aumentar a produção ano a ano.

Por estes motivos, torna-se necessário produzir de maneira eficiente e lançar mão de estratégias que possibilitem melhorias no desempenho das aves. Uma dessas estratégias eficientes é o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho nas rações. Estes antimicrobianos são utilizados devido aos sistemas de produção atuais de frangos de corte estarem expostos a vários microrganismos patogênicos, que podem prejudicar a qualidade intestinal ou até mesmo facilitar a ocorrência de doenças. No entanto, atualmente o uso de antibióticos nesta modalidade vem sofrendo restrições devido à possibilidade de seleção de microrganismos resistentes e à exigência de produtos livres de resíduos por parte dos consumidores (RAMOS et al., 2011).

Nos últimos cinco anos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou instruções normativas proibindo a utilização de alguns princípios ativos e sinalizou a intenção de proibir a utilização de outros como a tilosina, lincomicina, virginiamicina, bacitracina e tiamulina com a finalidade de

promotores de crescimento. Em janeiro de 2020 publicou a Instrução Normativa número 1, a qual proibiu a importação, fabricação ou comercialização de tilosina, lincomicina e tiamulina, além de ter cancelado os registros destes aditivos (MAPA, 2020).

Estes fatores tornam essencial o desenvolvimento de estratégias que possibilitem a continuidade da produção eficiente, apesar da não utilização dos antibióticos como promotores de crescimento. Estas ações passam pela melhoria da biossegurança nas propriedades, adoção de manejos sanitários diferenciados, período de intervalo adequado, uso de vacinas e tratamentos nas camas antes do novo alojamento. Além disso, é de extrema importância que o melhoramento genético mantenha como um dos focos buscar animais que possam ser mais eficientes no combate às doenças mediante melhoria da resposta imune.

Outro alicerce extremamente importante diz respeito à nutrição, que deve ser adequada a todo momento no intuito de buscar o melhor desempenho e, simultaneamente ser uma dieta com capacidade imunogênica. Neste sentido, em muitos momentos é necessário adotar programas alternativos ao uso de antibióticos promotores de crescimento, como aditivos nutricionais.

Dentre os aditivos, o uso de probióticos ou microrganismos via dieta têm recebido grande atenção devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana contra antibióticos e, posteriormente, as mencionadas proibições de antibióticos promotores de crescimento na produção animal (LEKSHMI et al., 2017). Diferentes cepas têm distintos modos de ação, como competição por nutrientes e adesão com patógenos entéricos. As bactérias probióticas auxiliam na digestão e absorção de nutrientes, produzindo enzimas hidrolíticas, como amilase, lipase e protease. Além disso, essas bactérias benéficas aumentam a imunidade modulando o sistema

imunológico do hospedeiro e alterando atividades microbianas no intestino (POURABEDIN et al., 2015).

No entanto, ainda existem muitas dúvidas quanto ao funcionamento destes aditivos para substituir totalmente o uso de antibióticos promotores de desempenho em situações de estresse e desafio entérico.

Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a resposta de um programa nutricional com uso de simbióticos atuando como melhoradores de desempenho, em situação de desafio entérico ou não, sobre a qualidade intestinal e desempenho de frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. INTEGRIDADE INTESTINAL

O trato gastrointestinal é visto como o principal elemento da produtividade, entrada de patógenos e prevenção de doenças. A saúde do intestino é dependente do estado nutricional e sanitário das aves, o que significa manter o sistema imunológico, a microbiota e a mucosa intestinais equilibradas. A saúde intestinal afeta não somente a digestão e absorção de nutrientes, como também o equilíbrio das diferentes comunidades bacterianas entéricas (STANLEY et al., 2012).

O intestino e seus componentes são funcionalmente dependentes para que o adequado desenvolvimento fisiológico do hospedeiro possa acontecer. Sendo o órgão com a maior área de superfície com interação constante com o meio ambiente, o intestino deve fornecer uma função de barreira eficaz, capaz de reduzir a exposição a toxinas ambientais e potenciais patógenos, além de permitir a absorção de nutrientes e secreção dos resíduos não utilizados (KOGUT et al., 2016).

A barreira intestinal é formada essencialmente por uma camada celular de enterócitos, suas membranas, e as junções intercelulares (*Tight Junctions*) entre elas ao longo do epitélio intestinal, sendo recoberto por uma camada de muco, protegida por componentes humorais e celulares do sistema imunológico local (VANCAMELBEKE e VERMIERE, 2017; CHELAKKOT et al., 2018). A integridade da barreira intestinal é de suma importância na produção avícola. A perda da integridade da barreira intestinal (ou disfunção da barreira intestinal) leva ao aumento da permeabilidade intestinal, que é definida como a difusão não mediada de grandes moléculas, normalmente restritas ao lúmen intestinal, sem acesso ao sistema circulatório (LAMBERT, 2009). O aumento da permeabilidade intestinal

geralmente resulta em reações inflamatórias locais prejudiciais e, possivelmente, sistêmicas. Essa situação é comumente referida como “intestino permeável” (CHELAKKOT et al., 2018).

As defesas intestinais do hospedeiro são compostas por uma série de barreiras, a maioria das quais são componentes da imunidade inata (HOOPER, 2009; BELKAID e HARRISON, 2017). Essas barreiras funcionam para segregar a microbiota comensal e potenciais patógenos no lúmen intestinal, além de eliminar qualquer um que penetre na barreira (HOOPER, 2009). A primeira barreira é formada por microbiota que consiste em uma comunidade diversa de agentes que foram modulados de acordo com o sistema imunológico do hospedeiro. A maioria desses microrganismos executa funções que são vitais para a homeostase fisiológica do hospedeiro, enquanto o hospedeiro fornece um ambiente rico em nutrientes para os mesmos viverem. Quando em homeostase, a barreira de microrganismos induz uma série de interações microbianas, imunológicas e metabólicas com o hospedeiro que geram condições desfavoráveis à colonização por patógenos entéricos em um fenômeno conhecido como resistência devido à colonização (BUFFIE et al., 2013). A segunda barreira é uma barreira química. Ela consiste em uma camada dupla de muco que cobre todo o epitélio intestinal; a camada superior de muco fornece um ambiente favorável à sobrevivência das bactérias comensais (barreira microbiana). A camada interna de muco permanece relativamente estéril através da produção de peptídeos antimicrobianos e secreção de IgA por células especializadas no epitélio (RAMANAN e CADWELL, 2016, BELKAID e HARRISON, 2017). A seguir está uma barreira física fornecida pelas células epiteliais intestinais. O epitélio inclui enterócitos, células caliciformes que sintetizam e liberam mucina, células de Paneth que sintetizam peptídeos

antimicrobianos e células-tronco intestinais. Entre as células epiteliais estão as junções intercelulares, ou *tight junctions*, que formam uma superfície contínua e ajudam a selar o espaço intercelular, mantendo separação do ambiente externo para o lúmen intestinal (YURONG et al., 2005). A última barreira subjacente às junções intercelulares é uma barreira imunológica na lâmina própria formada por células imunológicas (macrófagos, células dendríticas, células T, linfócitos) e algumas moléculas como citocinas e quimiocinas (HOOPER, 2009, BELKAID e HARRISON, 2017).

Deste modo, vários diferentes fatores que possam ocasionar estresse fisiológico ou psicológico podem impactar negativamente a integridade intestinal e facilitar a ocorrência de doenças (KEITA e SÖDERHOLM, 2010). Assim, extrema atenção é necessária para a saúde do trato gastrointestinal pois ele é naturalmente protegido por bactérias probióticas, presentes no intestino. Quando essas bactérias não são capazes de proteger o hospedeiro contra agentes prejudiciais, os patógenos começam a invadir tecidos, produzindo toxinas letais e metabólitos (ABAI DULLAH et al., 2019). A composição da microbiota é dependente da idade das aves e localização de criação; assim como recebe influência de fatores, como variedade da dieta, o tempo de trânsito gastrointestinal e o pH intestinal (MORGAN et al., 2013).

Atualmente, com a restrição cada vez mais severa de uso de antibióticos promotores do crescimento, é fundamental o entendimento dos mecanismos através dos quais a microbiota intestinal influencia a colonização dos patógenos para controlar algumas das principais doenças das aves. A microbiota intestinal das aves desempenha importante papel na prevenção contra patógenos invasores mediante a exclusão competitiva, produção de compostos antimicrobianos e, ainda, a

estimulação do sistema imune da mucosa (CLAVIJO e FLÓREZ, 2018). No trato gastrointestinal dos frangos, a quantidade e a variedade de bactérias são maiores nos cecos, onde existem mais de 10^{11} bactérias por grama de conteúdo (YEOMAN et al., 2012). Thomas et al., (2019) consideraram que há proteção das aves contra patógenos através da modificação da microbiota cecal.

A aves podem ser colonizadas por patógenos considerados de risco para a saúde pública, o que ainda é um grande problema a nível de granjas comerciais. Grande parte dos estudos são realizados em condições experimentais, e esses modelos experimentais podem não ser totalmente capazes de imitar as condições reais das granjas. Ao mesmo tempo, é praticamente impossível controlar condições experimentais em granjas comerciais, já que fatores ambientais complexos, como nível de biossegurança, tipo de galpão e clima, podem afetar a composição da microbiota intestinal das aves (KERS et al., 2018). Portanto, a identificação e o conhecimento acerca da microbiota intestinal em granjas comerciais, e os fatores comuns que afetam a microbiota cecal, excluindo idade, ainda permanecem obscuros e precisam ser melhor compreendidos.

As aves diariamente são expostas a um número incontável de perigos ambientais potencialmente patogênicos através do ar, água e alimentos que consomem, além do extremo contato com as outras aves do lote, que pode resultar na ativação do sistema imunológico inato do trato gastrointestinal. A inflamação é a manifestação mais prevalente da defesa do hospedeiro em reação a alterações na homeostase do tecido (MEDZHITOV, 2008). A inflamação é provocada por receptores imunes que reconhecem e detectam possível infecção, dano ao hospedeiro e algumas moléculas que sinalizam perigo ativam uma rede altamente regulada de eventos imunológicos e fisiológicos com o objetivo de manter a

homeostase e restaurar a funcionalidade (CHOVATIYA e MEDZHITOV, 2014). A ativação desta resposta imune direciona a produção de uma série de células e moléculas pró-inflamatórias cruciais para controlar a maioria dos desafios infecciosos e não infecciosos (BARTON, 2008).

A inflamação é uma resposta adaptativa que se ajusta às condições de um ambiente específico, como lesão ou mau funcionamento do tecido, excesso de nutrientes e metabólitos, toxinas ou infecção (GARRETT et al., 2010) e que resulta em inúmeras reações inflamatórias. As indústrias de produção animal estão mais familiarizadas com a inflamação intestinal como um processo patológico associado a diminuição no ganho de peso, ingestão de ração, eficiência alimentar, viabilidade e uniformidade (ISERI e KLASING, 2014). No entanto, pesquisas recentes têm demonstrado que a inflamação, mesmo que rigidamente controlada, exhibe variabilidade fenotípica dependendo do tipo de gatilho indutor da resposta.

Assim, mesmo em condições de homeostase, o intestino é continuamente exposto a uma infinidade de estímulos exógenos antigênicos, dietéticos e tóxicos, bem como estímulos endógenos, como componentes bacterianos estruturais (lipopolissacarídeos e peptidoglicanos) e metabólitos produzidos por bactérias da microbiota, todos os quais induzem uma estimulação de baixo grau do sistema imunológico inato, que é continuamente controlado e contido, evitando assim danos ao tecido intestinal. Esta resposta inflamatória controlada foi definida como inflamação fisiológica (FIOCCHI, 2008) e é dependente do equilíbrio da resposta imune inata que media a defesa do hospedeiro e a tolerância no intestino. No entanto, a introdução de uma infecção resultando em aumento nas moléculas específicas produzidas por microrganismos patogênicos e / ou fatores de virulência ou detritos celulares provenientes de lesão tecidual tenderiam a transformar a

inflamação fisiológica em inflamação patológica ou inflamação clássica (BARTON, 2008; MEDZHITOV, 2008).

Conforme mencionado, o trato gastrointestinal permanece em inflamação fisiológica durante a maior parte do tempo, de modo que a exposição contínua a patógenos pode transformar esta inflamação em patológica. Desta forma, é de extrema importância que a regeneração e reconstituição da integridade do epitélio seja rápida devido à complexidade multifuncional desta mucosa, e a ave atual está preparada para isto. Uma troca celular (turnover) total pode acontecer entre 24 a 96 horas, o que representa quase 10% do ciclo de vida do frango de corte (GOTTARDO et al., 2016).

2.2. ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO

Ao longo de mais de seis décadas, os antibióticos tem sido utilizados via dieta não apenas como meio de controlar doenças, mas também para melhorar o desempenho e eficiência alimentar dos animais (GADDE et al., 2018). O amplo uso de antibióticos como promotores de crescimento a longo prazo pode contribuir para o desenvolvimento de bactérias resistentes às drogas utilizadas para combater infecções em humanos. Com base nesse suposto risco, a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1997) e o Economic and Social Committee of The European Union (1998) concluíram que o uso destes antimicrobianos seria um risco para a saúde pública. A União Europeia banuiu o uso de todos os antibióticos como promotores de crescimento via ração em 2006 (CASTANON, 2007). Em 2009, agências governamentais nos EUA, como a Food and Drug Administration (FDA), atestaram que o uso de antibióticos para promoção do crescimento deveria ser eliminado (FDA, 2009).

Uma descoberta realizada no ano de 2016 demonstrou que há bactérias que podem estar expressando genes de resistência. McGann et al. (2016) relataram a descoberta do gene de resistência para colistina, o MCR-1 em uma amostra clínica de infecção do trato urinário em humanos. Os testes de suscetibilidade à colistina demonstraram que nenhuma dose segura de colistina seria eficaz para tratar a infecção bacteriana, demonstrando a resistência bacteriana a essa molécula.

Além da influência maléfica sobre a microbiota intestinal, tem sido evidenciado que o uso elevado de antibióticos como aditivos para rações pode, a longo prazo, contribuir para o desenvolvimento de bactérias resistentes aos medicamentos utilizados para tratar as infecções que são de potencial risco aos humanos (GARCIA-MIGURA et al., 2014).

Além da preocupação com a saúde pública, adicionalmente, a antibioticoterapia destrói a microbiota normal presente no trato gastrointestinal (DANZEISEN et al., 2011), o que permite a proliferação de patógenos que lesam a mucosa e causam diarreia grave associada a antibióticos (COTÉ e BUCHMAN, 2006).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou instruções normativas proibindo a utilização de colistina, no ano de 2016 mediante Instrução Normativa número 45 e, em dezembro de 2018, mediante portaria número 171, proferiu a intenção de proibir a utilização de tilosina, lincomicina, virginiamicina, bacitracina e tiamulina com a finalidade de promotores de crescimento, estas que em janeiro de 2020 deram origem à Instrução Normativa número 01, a qual proibiu a importação, fabricação ou comercialização de tilosina, lincomicina e tiamulina, além de ter cancelado os registros destes aditivos (MAPA, 2020).

Este banimento constituiu grande problema, pois comumente, antibióticos promotores de crescimento têm sido usados para tratar a enterite necrótica (LEKSHMI et al., 2017). Além disso, o uso de antibióticos promotores de crescimento foi declarado como ameaça alarmante para a saúde pública pela OMS em 2012 e levou a restrição da terapia antimicrobiana.

A proibição dos antibióticos, já executada em muitos locais do mundo, seguramente é um caminho a ser seguido por quem ainda não aderiu ao banimento. Desde a proibição do uso de antibióticos, as incidências de enterite necrótica estão aumentando em frangos de corte (VAN IMMERSEEL et al., 2009) e há necessidade urgente de buscar estratégias alternativas eficazes para substituir o uso de antibióticos. Muitas terapias não antibióticas, que incluem a administração de exclusão competitiva como probióticos (WANG et al., 2017; WHELAN et al., 2018), prebióticos (KEERQIN et al., 2017) e óleos essenciais (BRENES e ROURA, 2010) tem demonstrado propriedades bacteriostáticas (CALIK e ERGÜN, 2015). Anteriormente, inúmeras investigações provaram que probióticos, plantas e seus extratos (WHELAN et al., 2018), enzimas (ENGBERG et al., 2004), ácidos orgânicos (TIMBERMONT et al., 2010), e lisozimas (LIU et al., 2010) aumentam a digestão e absorção de nutrientes. Dentre várias estratégias alternativas, os probióticos parecem ser a estratégia mais efetiva que pode ser usada como alternativa ao uso de antibióticos em frangos de corte.

2.3. ADITIVOS NUTRICIONAIS

Aditivos nutricionais ideais devem possuir efeitos benéficos similares aos antibióticos promotores de crescimento, garantir ótimo desempenho zootécnico, e melhorar a disponibilidade de nutrientes (HUYGHEBAERT et al., 2011).

Considerando os mecanismos de ação propostos pelos melhoradores de desempenho (modulação do microbioma e atividade imune), uma alternativa deve ter, na prática, estas duas propriedades, além de possuir a capacidade de melhorar a conversão alimentar e o desempenho (HUYGHEBAERT et al., 2011; SEAL et al., 2013). Algumas classes de produtos alternativos têm sido propostas e testadas na avicultura, como probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas, fitogênicos e minerais (GADDE et al., 2017a).

Enzimas dietéticas são proteínas ativas capazes de acelerar quimicamente a quebra de nutrientes a fim de convertê-los em componentes menores para facilitar a digestão e absorção (THACKER, 2013). Várias enzimas, derivadas de microrganismos como fungos e bactérias são obtidas mediante fermentação, as quais são utilizadas em dietas de aves e suínos há muitos anos, de modo que sua eficácia em melhorar desempenho e eficiência alimentar é notável (GADDE et al., 2017a).

Aditivos fitogênicos também são referidos como fitobióticos e são considerados compostos bioativos naturais derivados de plantas e que podem ser adicionados às dietas animais para melhorar a produtividade (WINDISCH et al., 2008). Dependendo do componente utilizado da planta, estes aditivos podem ser classificados como ervas, especiarias ou, ainda, óleo essencial (VAN DER KLIS e VINYETA-PUNTI, 2014). Os principais compostos bioativos são os polifenóis, sendo que a composição e concentração varia de acordo com a planta, suas partes utilizadas, origem geográfica, período de colheita, fatores ambientais e de estocagem além das técnicas de processamento (WINDISCH et al., 2008; APPLGATE et al., 2010).

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, inclusive sendo amplamente documentado (GADDE et al., 2017a). Seu modo de ação inclui a redução de pH do trato gastrointestinal anterior (PANDA et al., 2009), alteração do microbioma mediante ação direta na mortalidade de bactérias patogênicas (BOROOJENI et al., 2014), além de melhorar a digestibilidade de nutrientes (NEZHAD et al., 2011).

2.3.1. Prebióticos e probióticos

Prebióticos podem ser definidos como componentes não digestíveis da alimentação que conferem ao hospedeiro melhoria da saúde mediante modulação da microbiota intestinal (FAO, 2007). São macromoléculas derivadas de plantas ou sintetizadas por microrganismos, de modo que os mais comumente suplementados são FOS (frutoligossacarídeos) e MOS (mananoligossacarídeos) (GADDE et al., 2017a).

Os mananoligossacarídeos, derivados da camada externa da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido extensivamente estudados e utilizados como suplemento prebiótico em dietas de frangos de corte. A adição de variados níveis de MOS melhora significativamente o peso vivo e a eficiência alimentar (BENITES et al., 2008), melhora de imuno competência intestinal (SHANMUGASUNDARAM e SELVARAJ, 2012), além de influenciar a microbiota intestinal (POURABEDIN et al., 2014).

Probióticos são aditivos que contém microrganismos vivos, que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios para a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; HILL e GUARNER, 2014). O uso de probióticos ou

microrganismos via alimentação tem recebido grande atenção devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana contra antibióticos e, posteriormente, as mencionadas proibições de antibióticos promotores de crescimento na produção animal (LEKSHMI et al., 2017). Diferentes cepas de agentes bio-terapêuticos têm distintos modos de ação, como competição por nutrientes e adesão com patógenos entéricos. As bactérias probióticas auxiliam na digestão e absorção de nutrientes, produzindo enzimas hidrolíticas, como amilase, lipase e protease. Além disso, essas bactérias benéficas aumentam a imunidade modulando o sistema imunológico do hospedeiro e alterando atividades microbianas no intestino (POURABEDIN et al., 2015). Esses microrganismos vivos têm demonstrado características defensivas ao proteger a mucosa intestinal, que atua como uma barreira, bem como funciona como antagonista biológico durante os ensaios clínicos (JONES et al., 2015). Além disso, os probióticos produzem substâncias antimicrobianas que inibem o crescimento de agentes patogênicos e neutralizam os efeitos das enterotoxinas (WU et al., 2018). Outra ação é estimular o crescimento e desenvolvimento de órgãos imunológicos por componentes peptidoglicanos, presentes na parede celular bacteriana (GADDE et al., 2017a).

Adicionalmente, probióticos reduzem a ocorrência de doenças gastrointestinais mediante estimulação do crescimento de microrganismos benéficos, estimulação do sistema imune, modulação da atividade de células epiteliais e dendríticas, linfócitos citotóxicos natural killers (NK), além de melhorar a biodisponibilidade de nutrientes (UNTOO et al., 2018). Esta classe de produtos também pode proteger o hospedeiro de alguns patógenos mediante a colonização do trato gastrointestinal (GETACHEW, 2016). Suas funções na prevenção de doenças podem ocorrer pela capacidade de excluir competitivamente patógenos

intestinais, modulação da resposta imune gastrointestinal e produção de alguns metabólitos como algumas bacteriocinas capazes de inibir ou matar bactérias patogênicas. Ademais, por auxiliarem no desempenho, probióticos podem atuar contra disbioses, mantendo o balanço normal da microbiota e contribuindo para a otimização da absorção de nutrientes (PARK et al., 2016).

Outra função relevante consiste no fato que as bactérias probióticas modificam o pH do intestino ao produzir ácidos graxos de cadeia curta que inibem a proliferação de patógenos e, conseqüentemente, previnem doenças intestinais (JERZSELE et al., 2012). Além disso, a suplementação de ácidos graxos de cadeia curta complementares na alimentação estimularam a resposta imunológica (BRISBIN et al., 2015) e mostraram diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias em modelos de frango desafiados (ZHANG et al., 2011). Butirato também desempenha um papel importante na manutenção da barreira intestinal epitelial e no desempenho de frangos de corte (RITZI et al., 2014).

Entre as estratégias não antibióticas, os probióticos têm sido amplamente utilizados como alternativa aos antibióticos que aumentam a população de bactérias benéficas e promovem a saúde intestinal do hospedeiro (M'SADEQ et al., 2015). Além disso, bactérias probióticas ajudam na digestão e absorção dos nutrientes mediante a produção de enzimas. Ainda, a suplementação de probióticos aumenta a imunidade ao modular a microbiota intestinal e reduzir a colonização patogênica como *C. perfringens* (HOFACRE et al., 2019).

Quando os aditivos prebióticos e probióticos são combinados, ambos atuam de maneira sinérgica e então é determinada como uma nova categoria de aditivos, denominada de simbióticos (ALLOUI et al., 2013). Há um grande potencial para que simbióticos sejam amplamente utilizados como alternativas aos antibióticos

melhoradores de desempenho por serem capazes de melhorar desempenho e também ocasionar redução da carga patogênica no intestino das aves (GADDE et al., 2017b).

Alguns dos principais gêneros de bactérias utilizados como probióticos nas últimas décadas, incluem algumas cepas de *Bacillus sp.*, como *B. licheniformis* e *B. subtilis*. Bactérias do gênero *Bacillus* tem múltiplas vantagens, como maior resistência aos processos térmicos e mecânicos na fabricação de rações, maior vida útil e robustez sob condições flutuantes dentro do trato gastrointestinal de frangos de corte (GRANT et al., 2018). Na indústria avícola, o gênero *Bacillus sp.* tornou-se altamente atrativo devido à formação de esporos, os quais possuem capacidade de sobreviver em ambiente hostil durante o processamento de ração peletizada. Eles são tolerantes às condições ácidas (baixo pH) e enzimas hidrolíticas presentes no trato gastrointestinal de aves (ELSHAGHABEE et al., 2017). Uma investigação demonstrou que bactérias do gênero *Bacillus sp.* têm propriedades anti-inflamatórias que poderiam prevenir a inflamação da mucosa intestinal (EICHNER et al., 2018). Em outro estudo, Wu et al. (2018) demonstraram que uma cepa de *B. subtilis* utilizada na suplementação de probióticos impediu a proliferação de *C. perfringens* e melhorou o ganho de peso corporal dos frangos de corte.

A administração oral de *B. subtilis* não modula apenas a saúde intestinal e a imunidade de frangos de corte, como também melhora a arquitetura e altura das vilosidades intestinais de modo que a absorção máxima de nutrientes pode ocorrer (LI et al., 2017).

Além disso, a interação entre a secreção produzida por bactérias probióticas e os patógenos desempenha papel fundamental no aumento da imunidade e na

manutenção da estrutura intestinal (RAJPUT et al., 2013). *B. subtilis PB6*, uma cepa benéfica isolada do intestino de aves saudáveis produziu uma substância antimicrobiana, *in vitro*, dotada de atividade bacteriostática contra várias cepas de *Clostridium sp.* (ELSHAGHABEE et al., 2017), *Escherichia coli* e *Campylobacter sp.* (TEO e TAN, 2006). Ainda mais importante, o *B. subtilis PB6* secreta surfactinas que demonstraram propriedades antimicrobianas (TEO e TAN, 2006), antivirais e anti-tumorais (HEERKLOTZ e SEELIG, 2001) que neutralizam os efeitos dos patógenos e seus metabólitos tóxicos. Conclusivamente, a cepa probiótica *PB6* pode mitigar a enterite necrótica em frangos de corte desafiados com *C. perfringens* (JAYARAMAN et al., 2017).

Outra cepa comumente isolada de *B. licheniformis*, documentada como bactéria segura, é amplamente utilizada na indústria avícola devido suas propriedades probióticas. A inclusão de *B. licheniformis* na ração pode ser utilizada para melhoria de desempenho (XU et al., 2014), assim como substituir os antibióticos para controlar enterite necrótica na avicultura comercial (ATTIA et al., 2012) sem efeitos adversos. Além disso, *B. licheniformis* produz várias enzimas hidrolíticas, como protease, lipase e amilase que aumentam a digestibilidade de nutrientes e a capacidade de absorção em frangos de corte (ROZS et al., 2001).

Em frangos de corte, o fígado é um centro metabólico para o metabolismo de lipídios e síntese de ácidos graxos (HUANG et al., 2013). Porém, muitos fatores de estresse influenciam o metabolismo lipídico na indústria avícola comercial (SANEYASU et al., 2013) e o fígado afetado por enterite necrótica sofre alterações patológicas (YANG et al., 2010). Ainda assim, são capazes de reduzir o estresse antioxidante e regular o nível de expressão de certos genes relacionados ao metabolismo lipídico. Decisivamente, o pré-tratamento com *B. licheniformis* possui

potencial para prevenir que aves desafiadas com *C. perfringens* desenvolvam a doença (ZHOU et al., 2016).

Outra importante espécie bacteriana utilizada como probiótico é chamada de *Bacillus coagulans*, um gram positivo seguro, formador de esporos e produtor de ácido lático que não codifica enterotoxinas. Possui cobertura proteica protetora semelhante a de um esporo, o que permite resistir a altas temperaturas e sobreviver aos ácidos estomacais e sais biliares, para então atingir o intestino delgado, germinar e se multiplicar (GU et al., 2015). Conseqüentemente, é comumente utilizado como probiótico na produção de aves (WANG e GU, 2010). Estudos demonstraram que *Bacillus coagulans* modificaram a microbiota intestinal devido ser capaz de aumentar a quantidade de microrganismos desejáveis para competirem com organismos patogênicos em humanos (NYANGALE et al., 2015), melhorando desempenho e eficiência alimentar em frangos de corte mediante produção de enzimas como protease, amilase, xilanase e lipase, além de aminoácidos e vitaminas (WANG e GU, 2010; ZHOU et al., 2010). Estudos *In Vivo* utilizando humanos indicaram que *Bacillus coagulans* apresentou atividade antimicrobiana, antiviral e antioxidante mediante modulação de citocinas, inibição de espécies anaeróbias e melhoria de atividade fagocitária (SARI et al., 2011).

Estudos *In Vitro* têm demonstrado que *Bacillus coagulans* modulam a resposta imune (JENSEN et al., 2010), e possuem habilidade de produzir bacteriocinas e substâncias similares, como a coagulina, além de ácidos lácticos com ótima atividade contra várias cepas de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, e espécies de *Clostridium* (ABDHUL et al., 2015; GU et al., 2015). Finalmente, a suplementação de *Bacillus coagulans* parece ser efetiva na redução da prevalência de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte devido ao fato de melhorar a

morfologia intestinal, regular adequadamente as respostas imunes na mucosa intestinal, assim como inibir a invasão e colonização por bactérias prejudiciais em frangos de corte, sem prejudicar o desempenho. *Bacillus coagulans* podem ser utilizados estrategicamente para reduzir infecções por *Salmonella* na produção de frangos (ZHEN et al., 2018).

Algumas cepas isoladas de bactérias ácido lácticas têm propriedades probióticas e estão sendo usadas em animais desempenhando papel extremamente vital na prevenção de doenças (TAVAKOLI et al., 2017). Várias espécies naturais de bactérias ácido lácticas incluem *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium* e *Lactococcus* encontrados no trato gastrointestinal de humanos e animais (VAUGHAN et al., 2005). Cepas isoladas pertencentes ao gênero *Lactobacillus sp.* são usados como suplementos alimentares para proteger os frangos de corte contra patógenos intestinais (HIGGINS et al., 2008). Estas cepas de bactérias ácido lácticas isoladas atuam como agentes promotores de saúde, atuando na manutenção da microbiota intestinal das aves (RAJOKA et al., 2017). Este gênero de bactérias produz ácidos como o ácido láctico, que atua reduzindo o pH do intestino e prevenindo a proliferação de *C. perfringens* no intestino (LIU et al., 2014). Ainda, uma habilidade diferencial dos *Lactobacillus sp.* (*L. acidophilus*, *L. reuteri* e *L. salivarius*) em termos de propriedades probióticas, é a modulação da resposta imunológica e aceleração do processo de fagocitose por macrófagos em frangos de corte (BRISBIN et al., 2015).

Dentre a categoria *Lactobacillus sp.*, um probiótico largamente utilizado para frangos de corte é *Lactobacillus acidophilus*. Pesquisas demonstram que a adição de *Lactobacillus acidophilus* via ração pode aumentar o ganho de peso, melhorar a conversão alimentar e reduzir mortalidade (ZHUI et al., 2018). Diversos estudos

têm revelado a eficiência de *L. acidophilus* utilizado para galinhas poedeiras em melhorar a eficiência produtiva (CESARI et al., 2014), na produção e qualidade de ovos, estado imune, microbiótica benéfica e saúde intestinal (FORTE et al., 2016).

Outras cepas probióticas comumente utilizadas são *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus reuteri*, capazes de melhorar ganho de peso ao melhorar a saúde intestinal, aumentando altura das vilosidades, profundidade das criptas e diminuição da viscosidade intestinal (PENG et al., 2016). Um probiótico fermentado em estado sólido melhora a eficiência alimentar provavelmente por meio do aumento da retenção de energia e proteína (SHIM et al., 2010). Uma cepa de *L. plantarum* isolada aumenta a proliferação de linfócitos periféricos e expressão de interferon-gama, interleucina 6 (IL-6) e IL-10 na mucosa intestinal. Ademais, outra cepa probiótica nomeada como *L. reuteri* aumenta os níveis de imunoglobulina sérica A (IgA), IgG e IgM em aves saudáveis (WU et al., 2019). Conclusivamente, a inclusão de *L. plantarum* e cepas de *L. reuteri* resultam em resposta imediata contra patógenos causadores de doenças, como *E. coli*, *C. perfringens* e *Brachyspira pilosicoli* mediante aumento do nível de IgG sérica e redução da patogenicidade associada a infecção intestinal (DING et al., 2019). Outra cepa comumente utilizada, nomeada *Enterococcus faecium*, normalmente encontrada no trato gastrointestinal de humanos e animais, possui propriedades contra *C. perfringens* porque geralmente produzem substâncias antimicrobianas, chamadas enterocinas e ácidos orgânicos (KLOSE et al., 2010) que ajudam a matar os patógenos presentes no trato gastrointestinal de frangos de corte. A Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) tem aprovado *E. faecium* cepa 11181 como um suplemento alimentar para melhorar o desempenho dos animais (PAJARILLO et al., 2015). Além disso, um estudo mostrou que a inclusão de *E. faecium* aumenta a área de

superfície e arquitetura das vilosidades do intestino do hospedeiro, auxilia na absorção de nutrientes e, finalmente, melhora o ganho de peso. Essas bactérias probióticas também são capazes de modular a composição da microbiota (LUO et al., 2013) e estimular a resposta imune. Em várias investigações, cepas de *E. faecium* demonstraram resistência contra patógenos intestinais que incluem *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* e *C. perfringens* (KARAFFOVÁ et al., 2017).

Algumas cepas de leveduras demonstraram propriedades probióticas pertencentes, as mesmas são pertencentes ao gênero *Saccharomyces*, inicialmente reconhecido por Henri boulard em 1920 a partir de frutos de lichia (KOTOWSKA et al., 2005). Produtos de levedura são promotores de crescimento naturais. A administração oral de *S. boulardii* reforça o ecossistema intestinal, modula a estrutura intestinal e aumenta a produção de citocinas para fortalecer a mucosa intestinal contra bactérias patogênicas (RAJPUT et al., 2013). Além disso, o probiótico de *S. boulardii* pode melhorar o desempenho e a defesa contra certos patógenos (RAJPUT e LI, 2012), aumentando a imunidade do hospedeiro. Simultaneamente, aumenta as atividades dos fatores tróficos, como o transporte de nutrientes, e mostra propriedades anti- inflamatórias (OZKAN et al., 2007). É conhecido que parede celular de leveduras são ricas em beta-glucanos e mananos, os quais podem modular a imunidade e proteger o hospedeiro dos danos provenientes de micotoxinas (SHANG et al., 2018). Embora estudos anteriores indicaram que a adição de *S. cerevisiae* não melhora o desempenho dos animais, o mesmo pode melhorar altura de vilosidades e reduzir a quantidade de *E. coli* no intestino (DOYLE et al., 2006). *S. cerevisiae* também possui boa capacidade de secretar enzimas, como proteases, xilanases e celulases (KOGUT et al., 2017).

Da mesma forma, *S. cerevisiae* também possui propriedades probióticas que

produzem efeitos antagônicos contra patógenos na parte inferior do intestino delgado, que podem ser devido à produção de etanol (ETIENNE-MESMIN et al., 2011). Conseqüentemente, o uso de cepas de leveduras via ração pode inibir o crescimento de bactérias patogênicas e melhorar o estado de saúde das aves.

2.4. TENDÊNCIAS PARA A PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

A evolução dos resultados zootécnicos na produção do frango de corte é extrema e evidente quando se compara com décadas passadas. Mais de 50 anos de seleção intensiva visando aumentar o ganho de peso diário e melhorar a taxa de eficiência alimentar tem gerado aves caracterizadas por elevada ingestão de ração, o que significa que pode ocorrer alta ingestão de certos ingredientes que podem ocasionar estresse e disfunções no sistema digestivo (COLLETT, 2012).

Outro aspecto importante diz respeito ao excesso de nutrientes nas dietas, que pode ocasionar impactos ambientais devido à excreção do excedente, além de ocasionar excesso de nutrientes a nível intestinal, que podem ficar disponíveis como substrato para alimentação de bactérias patogênicas, como por exemplo *Clostridium perfringens*, que se aproveitam desta oportunidade para ocasionar a enfermidade (LI et al., 2017).

Por outro lado, a falta de nutrientes na dieta pode ocasionar desempenho inferior ao desejado, o que, comercialmente é muito custoso para as agroindústrias, pensando nisso, seguramente as Empresas cada vez mais empregarão nutricionistas capazes de trabalhar com a o conceito de nutrição de precisão. O frango atual cresce rapidamente e suas necessidades nutricionais mudam quase que diariamente, e ainda assim o usual é ofertar 3 a 5 diferentes dietas durante o ciclo de vida do frango de corte (AVIAGEN, 2019).

O sucesso na implementação da nutrição de precisão envolve três principais fatores. Primeiro, acurácia na caracterização do ingrediente, ou seja, assegurar-se de que os níveis nutricionais dos ingredientes presentes na formulação sejam iguais ou muito próximos da realidade do ingrediente que está disponível na fábrica de ração. Entretanto, muitos ingredientes sofrem variações de acordo com colheita, época do ano, condições de armazenagem e ambientais (MOSS, 2020). Apesar disso, muitos nutricionistas continuam utilizando livros e manuais como referências para elaboração das matrizes nutricionais dos ingredientes que utilizarão na formulação, quando, poderiam lançar mão da tecnologia para utilização de métodos analíticos rápidos que possibilitam a verificação rápida dos níveis do ingrediente a ser utilizado (MOSS, 2021).

Como segundo fator, é obrigatório que as necessidades nutricionais dos frangos de corte sejam determinadas com precisão, a fim de identificar necessidades diárias. Muitos estudos têm sido conduzidos com esse objetivo, e os resultados podem ser analisados utilizando ferramentas de modelagem sofisticadas, que são softwares capazes de simular modelos, ou então, de modo mais simples, podem ser utilizados para alimentar curvas de requerimentos para especificação de necessidade diária de nutrientes (MOSS, 2020; MOSS, 2021).

Por último, o terceiro fator a ser observado requer o gerenciamento cuidadoso para garantir que os dois primeiros fatores sejam atendidos o mais proximamente possível e projetar o regime de alimentação que atenderia às necessidades diárias dos frangos de corte (MOSS, 2021).

Obviamente o ponto de maior dificuldade na implementação das ações relacionadas à nutrição de precisão diz respeito ao fator custo de produção, uma vez que a grande maioria das empresas opera com a fábrica de ração em seu limite

de capacidade diária, inviabilizando a adição de novos tipos de dietas no mapa de produção. A implementação da nutrição de precisão dependerá da habilidade da indústria em empregar isto em sua rotina e também na habilidade em realizar cálculos e testes que demonstrem que isto pode ser financeiramente mais viável do que parece (MOSS, 2021).

No que diz respeito ao melhoramento genético, é possível afirmar que a melhoria em termos de eficiência alimentar ainda não chegou ao máximo possível e realmente se trata de um parâmetro prioritário para as empresas deste segmento, uma vez que o apelo ambiental é cada vez maior, tanto por redução da excreção residual no ambiente, como também pelo uso de terras. Estima-se que 2 pontos adicionais de diferença em conversão alimentar, representaria uma área de cultivo adicional do tamanho do estado de Rhode Island para atender esta demanda. Ou seja, é um grande apelo e que leva às empresas de genéticas a continuamente buscar melhorias em termos de conversão alimentar (AVIAGEN, 2017).

REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal, Relatório Anual, 2021.

ABADULLAH M., PENG S., KAMRAN M., SONG X., YIN Z. Current Findings on Gut Microbiota Mediated Immune Modulation against Viral Diseases in Chicken. **Viruses**. 11(8):681, 2019.

ABDHUL K., GANESH M., SHANMUGHAPRIYA S., VANITHAMANI S., KANAGAVEL M., ANBARASU K. L. Bacteriocinogenic potential of a probiotic strain *Bacillus coagulans* [BDU3] from Ngari. **International Journal of Biological Macromolecules**. 79:800– 806, 2015.

ALLOUI M.N., SZCZUREK W., ŚWIATKIEWICZ S. The usefulness of prebiotics and probiotics in modern poultry nutrition: a review. **Annals of Animal Science** 13: 17–32, 2013.

APPLEGATE T.J., KLOSE V., STEINER T., GANNER A., SCHATZMAYR G.

Probiotics and phytogenics for poultry: myth or reality? **Journal of Applied Poultry Research** 19: 194–210, 2010.

ATTIA Y.A., ELLAKANY H.F., EL-HAMID A.A., BOVERA F., GHAZALY S. Control of *Salmonella enteritidis* infection in male layer chickens by acetic acid and/or prebiotics, probiotics and antibiotics. **Archiv für Geflügelkunde** 76:239–245, 2012.

AVIAGEN. **Ross 308 performance objectives**. NSW, Australia: 2019. Disponível em: <http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308-308FF-BroilerPO2019-EN.pdf>. Acessado em: Julho, 2021.

AVIAGEN. **Technical Conference**, 2017, Atlanta USA.

BARTON, G. M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. **Journal of Clinical Investigation**. 118:413–420, 2008.

BELKAID, Y., HARRISON, O. J. Homeostatic immunity and the microbiota. **Immunity** 46:562–576, 2017.

BENITES V., GILHARRY R., GERNAT A.G., MURILLO J.G. Effect of dietary mannan oligosaccharide from Bio-Mos or SAF-Mannan on live performance of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research** 17: 471–475, 2008.

BOROOJENI F., VAHJEN W., MADER A., KNORR F. The effects of different thermal treatments and organic acid levels in feed on microbial composition and activity in gastrointestinal tract of broilers. **Poultry Science**. 93: 1440–1452, 2014.

BRENES A., ROURA E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**. 158 (1–2):1–14, 2010.

BRISBIN J.T., DAVIDGE L., ROSHDIEH A., SHARIF S. Characterization of the effects of three *Lactobacillus* species on the function of chicken macrophages. **Research in Veterinary Science**. 100:39–44, 2015.

BUFFIE, C. G., Pamer E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. **Nature Reviews Immunology**. 13:790–801, 2013.

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

CASTANON, J. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry Science**. 86:2466–2471, 2007.

CESARI V., MANGIAGALLI M.G., GIARDINI A., GALIMBERTI P., CARTERI S., GALLAZZI D., TOSCHI I. Egg quality and productive performance of laying hens fed different levels of skimmed milk powder added to a diet containing *Lactobacillus acidophilus*. **Poultry Science**. 93(5):1197–1201, 2014.

CHELAKKOT C., GHIM J., RYU S.H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. **Exp. Mol. Med.** 50:103, 2018.

CHOVATIYA R., MEDZHITOV R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. **Mol. Cell** 54:281–288, 2014.

CLAVIJO V., FLÓREZ M.J.V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. **Poultry Science**. 97:1006–21, 2018.

COLLETT S.R. Nutrition and wet litter problems in poultry. **Animal Feed Science Tech.** 173:65–75, 2012.

COTÉ G.A., BUCHMAN A.L. Antibiotic-associated diarrhoea. **Expert Opinion Drug Safe** 5(3):361–372, 2006.

DANZEISEN J.L., KIM H.B., ISAACSON R.E., TU Z.J., JOHNSON T.J. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. **PLoS ONE** 6:11, 2011.

DING S., WANG Y., YAN W., LI A., JIANG H., FANG J. Effects of *Lactobacillus plantarum* 15–1 and fructooligosaccharides on the response of broilers to pathogenic *Escherichia coli* O78 challenge. **PLoS ONE** 14:6, 2019.

DOYLE M.P., ERICKSON M.C. Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. **Poultry Science**. 85:960–73, 2006.

ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE OF THE EUROPEAN UNION, 1998. **Opinion on resistance to antibiotics as a threat to public health. No. ESC –98 – 016 – EN.** Disponível em <<http://eescopinions.eesc.europa.eu/EESCOpinionDocument.aspx?identifer=ces\lanciennessections\envi\envi471\ces1118-1998ac.doc&language=EN.Research,Gate>>, Acessado em: Junho de 2021.

EICHNER M., AUGUSTIN C., FROMM A., PIONTEK A., WALTHER W., BUCKER R., FROMM M., KRAUSE G., SCHULZKE J.D., GUNZEL D., PIONTEK J.L. In colon epithelia, *Clostridium perfringens* enterotoxin causes focal leaks by targeting claudins which are apically accessible due to tight junction derangement. **The Journal of Infectious Diseases**. 217(1):147–157, 2018.

ELSHAGHABEE F.M., ROKANA N., GULHANE R.D., SHARMA C., PANWAR H. *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. **Front. Microbiol.** 8:1490, 2017.

ENGBERG R.M., HEDEMANN M.S., STEENFELDT S., JENSEN B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. **Poultry Science**. 83(6):925–938, 2004.

ETIENNE-MESMIN L., LIVRELLI V., PRIVAT M., DENIS S., CARDOT J.M., ALRIC

M., BLANQUET-DIOT S. Effect of a new probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strain on survival of *Escherichia coli* O157: H7 in a dynamic gastrointestinal model. **Applied and Environment Microbiology** 77(3):1127–1131, 2011.

FAO/WHO. **Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.** World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, London, 2001.

FAO (2007). **FAO Technical Meeting on Prebiotics.** [Disponível em http://www.fao.org/ag/agn/files/prebiotics_tech_meeting.report.pdf.]

FDA. **Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food producing animals.** Food and Drug Administration, 2009. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM231851.pdf>>, Acessado em: Abril, 2021.

FIOCCHI, C. What is “physiological” intestinal inflammation and how does it differ from “pathological” inflammation? **Inflamm. Bowel Dis.** 14:S77–S78, 2008.

FORTE C., ACUTI G., MANUALI E., CASAGRANDE PROIETTI P., PAVONE S., TRABALZA-MARINUCCI M., MOSCATI L., ONOFRI A., LORENZETTI C., FRANCIOSINI M.P. Effects of two different probiotics on microflora, morphology, and morphometry of gut in organic laying hens. **Poultry Science.** 95(11):2528–2535;2016.

GADDE, U. D., OH S., LILLEHOJ H.S., LILLEHOJ E.P. Antibiotic growth promoters virginiamycin and bacitracin methylene disalicylate alter the chicken intestinal metabolome. **Scientific Reports** 8:3592, 2018.

GADDE U., KIM W.H., OH S., LILLEHOJ S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. **Animal Health Research Reviews** v18: 26-45, 2017a.

GADDE U, OH ST, LEE YS, DAVIS E, ZIMMERMAN N, REHBERGER T, LILLEHOJ HS. 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 Antimicrobiology Proteins** 9(4):397–405, 2017b.

GARCIA-MIGURA L., HENDRIKSEN R.S., FRAILE L., AARESTRUP F. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: the missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology** 170:1-9, 2014.

GARRETT, W. S., Gordon J.I., Glimcher L.H.. Homeostasis and inflammation in the intestine. **Cell** 140:859–870, 2010.

GETACHEW T. A review on effects of probiotic supplementation in poultry

performance and cholesterol levels of egg and meat. **Journal of World's Poultry Research**. 6(1): 31-36, 2016.

GOTTARDO E.T., PROKOSKI K, HORD D, VIOTT A.D., SANTOS T.C., FERNANDES J.I.M. Regeneration of the intestinal mucosa in Eimeria and E. coli challenged broilers supplemented with amino acids. **Poultry science** **95** (5), 1056-1065, 2016.

GRANT A.Q., GAY C.G., LILLEHOJ H.S. *Bacillus* spp. as direct-fed microbial antibiotic alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. **Avian Pathology** 47(4):339–351, 2018.

GU S. B., ZHAO L.N., WU Y., LI S.C., SUN J. R., HUANG J.F., LI D.D. Potential probiotic attributes of a new strain of *Bacillus coagulans* CGMCC 9951 isolated from healthy piglet feces. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 31:851– 863, 2015.

HEERKLOTZ H., SEELIG J. Detergent-like action of the antibiotic peptide surfactin on lipid membranes. **Biophysical Journal** 81(3):1547–1554, 2001.

HIGGINS S.E., HIGGINS J.P., WOLFENDEN A.D., HENDERSON S.N., TORRES-RODRIGUEZ A., TELLEZ G., HARGIS B. Evaluation of a *Lactobacillus*- based probiotic culture for the reduction of *Salmonella enteritidis* in neonatal broiler chicks. **Poultry Science**. 87(1):27–31, 2008.

HILL C., GUARNER F. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology Hepatology** 11(8):506–514, 2014.

HOFACRE C.L., REYNOLDS D., MATHIS G., LUMPKINS B., OLLIS N., SMITH J., DEMEY V. Effect of a Competitive Exclusion Culture in a Necrotic Enteritis Challenge Model in Broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 2, p. 350–355, 2019.

HOOPER L.V. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? **Nature Reviews Microbiology**. 7:367–374, 2009.

HUANG J., ZHANG Y., ZHOU Y., ZHANG Z., XIE Z., ZHANG J., WAN X. Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and transcription factor expression. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 61(36):8565–8572, 2013.

HUYGHEBAERT G., DUCATELLE R., VAN IMMERSEEL F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal** 187: 182–188, 2011.

ISERI V.J., KLASING K.C. Changes in the amount of lysine in protective proteins and immune cells after a systemic response to dead *Escherichia coli*: implications for the nutritional costs of immunity. **Integrative and Comparative Biology**. 54:922–930, 2014.

JAYARAMAN S., DAS P.P., SAINI P.C., ROY B., CHATTERJEE P.N. Use of *Bacillus Subtilis* PB6 as a potential antibiotic growth promoter replacement in improving performance of broiler birds. **Poultry Science**, 96(8):2614–2622, 2017.

JENSEN G.S., BENSON K.F., CARTER S.G., ENDRES J.R. Ganeden BC30 cell wall and metabolites: Anti-inflammatory and immune modulating effects in vitro. **BMC Immunology**.11:15, 2010.

JERZSELE A., SZEKER K., CSIZINSZKY R., GERE E. Efficacy of protected sodium butyrate, a protected blend of essential oils, their combination, and *Bacillus amyloliquefaciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**. 91(4):837–843, 2012.

JONES R.M., DESAI C., DARBY T.M. *Lactobacilli* modulate epithelial cytoprotection through the Nrf2 pathway. **Cell Reports**, 12(8):1217–1225, 2015.

KARAFFOVÁ V., MARCINKOVÁ E., BOBÍKOVÁ K., HERICH R., REVAJOVA V., STASOVA D., LEVKUTOVA M., LEVKUT M., LAUKOVA A., SEVCIKOVA Z., LEVKUT M. TLR4 and TLR21 expression, MIF, IFN- β , MD-2, CD14 activation, and sIgA production in chickens administered with EFAL41 strain challenged with *Campylobacter jejuni*. **Microbiologica** 62(2):89–97, 2017.

KEERQIN C., MORGAN N., WU S.B., SWICK R.A., CHOCT M. Dietary inclusion of arabinoxylo- oligosaccharides in response to broilers challenged with subclinical necrotic enteritis. **British Poultry Science** 58(4):418–424, 2017.

KEITA A.V., SÖDERHOLM J.D. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. **Neurogastroenterol. Motil.** 22:718–733, 2010.

KERS J.G., VELKERS F.C., FISCHER E.A.J., HERMES G.D.A., STEGEMAN J.A., SMIDT H. Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens. **Frontiers in Microbiology**. 9:235, 2018.

KLOSE V., BAYER K., BRUCKBECK R., SCHATZMAYR G. In vitro antagonistic activities of animal intestinal strains against swine-associated pathogens. **Veterinary Microbiology** 144(3–4):515–521, 2010.

KOGUT M.H., ARSENAULT R.J. AMPK and mTOR: sensors and regulators of immunometabolic changes during *Salmonella* infection in the chicken. **Poultry Science**. 95:345–353, 2016.

KOGUT M.H., ARSENAULT R.J. Immunometabolic phenotype alterations associated with the induction of disease tolerance and persistent asymptomatic infection of *Salmonella* in the chicken intestine. **Frontiers in Microbiology**. 8:372, 2017.

KOTOWSKA M., ALBRECHT P., SZAJEWSKA H. *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind

placebo-controlled trial **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, 21(5):583–590, 2005.

LAMBERT G.P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. **Journal of Animal Science**, 87(14 Suppl):E101–E108, 2009.

LEKSHMI M., AMMINI P., KUMAR S., VARELA M.F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. **Microorganisms** 5(1):11, 2017.

LI Z., WANG W., LV Z., LIU D., GUO Y. *Bacillus subtilis* and yeast cell wall improve the intestinal health of broilers challenged by *Clostridium perfringens*. **British Poultry Science**, 58(6):635–643, 2017.

LIU D., GUO Y., WANG Z., YUAN J. Exogenous lysozyme influences *Clostridium perfringens* colonization and intestinal barrier function in broiler chickens. **Avian Pathology**, 39(1):17–24, 2010.

LIU H., ZHANG J., ZHANG S., YANG F. Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62(4):860–866, 2014.

LIU X., YAN H., LE L.V.Q.X., YIN C. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Rhodopseudomonas palustris* in drinking water. **British Poultry Science**, 55(3):360–366 (XU), 2014.

LUO J., ZHENG A., MENG K., CHANG W. Proteome changes in the intestinal mucosa of broiler (*Gallus gallus*) activated by probiotic *Enterococcus faecium*. **Journal of Proteomics**, 91:226–241, 2013.

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

MCGANN P. *Escherichia coli* harboring *mcr-1* and *blaCTX-M* on a novel IncF plasmid: First report of *mcr-1* in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 8, p. 5107, 2016.

MEDZHITOV R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature** 454:428–435, 2008.

MORGAN X.C., SEGATA N., HUTTENHOWER C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. **Trends Genetics** 29(1):51–58, 2013.

MOSS A.F., CHRYSTAL P.V., CADOGAN D.J. Precision feeding enhances feed efficiency and carcass yield compared to broilers offered standard feeding programs. **Proceedings of the abstracts of 2020 International Poultry Scientific Forum**; 2020.

MOSS A.F. **Database of the nutrient content of Australian feed ingredients**.

Wagga Wagga, NSW, Australia: AgriFutures. Disponível em: < <https://www.agrifutures.com.au/product/database-of-the-nutrientcontent-of-australian-feed-ingredients/>>. Acessado em: Julho, 2021.

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

NEZHAD Y.E., GALE-KANDI J.G., FARAHVASH T., YEGANEH A.R. Effect of combination of citric acid and microbial phytase on digestibility of calcium, phosphorous and mineralization parameters of tibia bone in broilers. **African Journal of Biotechnology** 10: 15089–15093, 2011.

NYANGALE E.P., FARMER S., CASH H. *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 modulates faecalibacterium prausnitzii in older men and women. **The Journal of Nutrition**.145:1446–1452, 2015.

OZKAN T., SAHIN E., ERDEMIR G., BUDAK F. Effect of *Saccharomyces boulardii* in children with acute gastroenteritis and its relationship to the immune response. **Journal Of International Medical Research** 35(2):201–212, 2007.

PAJARILLO E.A., CHAE J.P., BALOLONG M.P., KIM H.B., PARK C.S., KANG D.K. Effects of probiotic *Enterococcus faecium* NCIMB 11181 administration on swine fecal microbiota diversity and composition using barcoded pyrosequencing. **Animal Feed Science and Technology** 201:80–88, 2015.

PANDA A.K., RAMA R.S.V., RAJU M.V.L.N., SHYAM S.G. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. **Asian- Australasian Journal of Animal Science** 22: 1026–1031, 2009.

PARK J.W., JEONG J.S., LEE S.I., KIM I.H. Effect of dietary supplementation with a probiotic (*Enterococcus faecium*) on production performance, excreta microflora, ammonia emission, and nutrient utilization in ISA brown laying hens. **Poultry Science** 95(12): 2829-2835, 2016.

PENG Q., ZENG X.F., ZHU J.L., WANG S., TIU X.T., HOU C.L., THACKER P.A., QIAO S.Y. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* B1 on growth performance, intestinal microbiota, and short chain fatty acid profiles in broiler chickens. **Poultry Science**. 95(4):893–900, 2016.

POURABEDIN M., GUAN L., ZHAO X. Xylo-oligosaccharides and virginiamycin differentially modulate gut microbial composition in chickens. **Microbiome** 3(1):15, 2015.

POURABEDIN M., XU Z., BAURHOO B., CHEVAUX E., ZHAO X. Effects of mannan oligosaccharide and virginiamycin on the cecal microbial community and intestinal morphology of chickens raised under suboptimal conditions. **Canadian Journal of Microbiology** 60: 255–266, 2014.

RAJOKA M.S., SHI J., ZHU J., SHAO D., HUANG Q., YANG H., JIN M. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. **Applied Microbiology and Biotechnology** 101(1):35–45, 2017.

RAJPUT I.R., LI L.Y., XIN X., WU B.B., JUAN Z.L., CUI Z.W., YU D.Y., LI W.F. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. **Poultry Science** 92(4):956–965, 2013.

RAJPUT I.R., LI W.F. Potential role of probiotics in mechanism of intestinal immunity. **Pakistan Veterinary Journal**, 32:3, 2012.

RAMANAN D., CADWELL K. Intrinsic defense mechanisms of the intestinal epithelium. **Cell Host Microbe** 19:434–441, 2016.

RAMOS L.S.N. 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.

RITZI M.M., ABDELRAHMAN W., MOHNL M., DALLOUL R.A. Effects of probiotics and application methods on performance and response of broiler chickens to an *Eimeria* challenge. **Poultry Science** 93(11):2772–2778, 2014.

ROZS M., MANCZINGER L., VÁGVÖLGYI C., KEVEI F. Secretion of a trypsin-like thiol protease by a new keratinolytic strain of *Bacillus licheniformis*. **FEMS Microbiology Letters** 205(2):221–224, 2001.

SANEYASU T., SHIRAGAKI M., NAKANISHI K., KAMISOYAMA H., HONDA K. Effects of short term fasting on the expression of genes involved in lipid metabolism in chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology** 165(2):114–118, 2013.

SARI, F.N., DIZDAR E.A., OGUZ S., ERDEVE O., URAS N., DILMEN U. Oral probiotics: *Lactobacillus sporogenes* for prevention of necrotizing enterocolitis in very low-birth weight infants: A randomized, controlled trial **European Journal of Clinical Nutrition**. 65:434–439, 2011.

SEAL B.S., LILLEHOJ H.S., DONOVAN D.M., GAY C.G. Alternatives to antibiotics: a symposium on the challenges and solutions for animal production. **Animal Health Research Reviews**, 14: 78–87, 2013.

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

SHANMUGASUNDARAM R., SELVARAJ R.K. Effect of killed whole yeast cell prebiotic supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters. **Poultry Science** 91: 107–111, 2012.

SHIM Y.H., SHINDE P.L., CHOI J.Y., KIM J.S., SEO D.K., PAK J.I., CHAE B.J., KWON I.K. Evaluation of multimicrobial probiotics produced by submerged liquid

and solid substrate fermentation methods in broilers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 23(4):521–529, 2010.

STANLEY D., KEYBURN A.L., DENMAN S.E., MOORE R.J. Changes in the caecal microflora of chickens following *Clostridium perfringens* challenge to induce necrotic enteritis. **Veterinary Microbiology**, 159(1–2):155–162, 2012.

TAVAKOLI M., HAMIDI-ESFAHANI Z., HEJAZI M.A., AZIZI M.H., ABBASI S. Characterization of probiotic abilities of Lactobacilli isolated from Iranian Koozeh traditional cheese. **Polish Journal of Food Nutrition Sciences**, 67(1):41–48, 2017.

TEO A.L., TAN H.M. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. **Journal of Applied Poultry Research** 15(2):229–235, 2006.

TIMBERMONT L., LANCKRIET A., DEWULF J., NOLLET N., SCHWARZER K., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R., VAN IMMERSEEL F.V. Control of *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. **Avian Pathology** 39(2):117–121, 2010.

THACKER P.A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 4: 35, 2013.

THOMAS M., WONGKUNA S., GHIMIRE S., KUMAR R., ANTONY L., DOERNER K.C., SINGERY A., NELSON E., WOYENGO T. Gut Microbial Dynamics during Conventionalization of Germfree Chicken. **mSphere Journal**.4:1–12, 2019.

UNTOO M., BANDAY M.T., AFZAL I., ADIL S. Potential of probiotics in poultry production. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 6(3): 1293-1300, 2018.

VAN IMMERSEEL F., ROOD J.I., MOORE R.J., TITBALL R.W. Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. **Trends of Microbiology** 17(1):32–36, 2009.

VANCAMELBEKE M., VERMEIRE S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. **Expert Review of Gastroenterology & Hepatology**. 11:821–834, 2017.

VAN DER KLIS J.D., VINYETA-PUNTI E. **The potential of phytogetic feed additives in pigs and poultry**. In: Proceedings of 18th Congress of the European Society of Veterinary & Comparative Nutrition, At Utrecht, Netherlands. Volume 18, 2014.

VAUGHAN E.E., HEILIG H.G., BEN-AMOR K., DE VOS W.M. Diversity, vitality and activities of intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria assessed by molecular approaches. **FEMS Microbiology Reviews**. 29(3):477–490, 2005.

YANG X., ZHUANG J., RAO K., LI X., ZHAO R. Effect of early feed restriction on

- hepatic lipid metabolism and expression of lipogenic genes in broiler chickens. **Research in Veterinary Science** 89(3):438–444, 2010.
- YEOMAN C.J., CHIA N., JERALDO P., SIPOS M., GOLDENFELD N.D., WHITE B.A. The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. **Animal Health Research Reviews**. 13:89–99, 2012.
- WANG H., NI X., QING X., LIU L., LAI J., KHALIQUE A., LI G., PAN K., JING B., ZENG D. Probiotic enhanced intestinal immunity in broilers against subclinical necrotic enteritis. **Frontiers in Immunology** 8:1592, 2017.
- WANG Y., GU Q. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers. **Research in Veterinary Science**. 89:163–167, 2010.
- WHELAN R.A., DORANALLI K., RINTTILÄ T., VIENOLA K., JURGENS G., APAJALAHTI J. The impact of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the pathology, performance, and intestinal microbiome of broiler chickens in a necrotic enteritis challenge. **Poultry Science** 98(9):3450–3463, 2018.
- WHO. 1997. **The medical impact of the use of antimicrobials in food animals**. World Health Organization, Report of a WHO meeting, Berlin, Germany, Disponível em: < <https://apps.who.int/iris/handle/10665/64439>>. Acessado em: Maio, 2021.
- WINDISCH W., SCHEDULE K., PLITZNER C., KROISMAYR A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science** 86: E140–E148, 2008.
- WU Y., WANG B., ZENG Z., LIU R., TANG L., LI G., LI W. Effects of probiotics *Lactobacillus plantarum* 16 and *Paenibacillus polymyxa* 10 on intestinal barrier function, antioxidative capacity, apoptosis, immune response, and biochemical parameters in broilers. **Poultry Science** 98(10):5028–5039, 2019.
- WU Y., SHAO Y., SONG B., ZHEN W., WANG Z., GUO Y., SHAHID M.S., NIE W. Effects of *Bacillus coagulans* supplementation on the growth performance and gut health of broiler chickens with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 9(1):9, 2018.
- YURONG Y., RUIPIN S., SHIMIN Z., YIBAO J.. Effect of probiotics on intestinal mucosal immunity and ultrastructure of cecal tonsils of chickens. **Archives of Animal Nutrition**. 59:237–246, 2005.
- XU Q.Q., YAN H., LIU X.L., LV L., YIN C.H., WANG P. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Rhodospirillum rubrum* in drinking water. **British Poultry Science** 55: 360–366, 2014.
- ZHANG W.H., JIANG Y., ZHU Q.F., GAO F., DAI S.F., CHEN J., ZHOU G.H. Sodium butyrate maintains growth performance by regulating the immune response in broiler chickens. **British Poultry Science** 52(3):292–301, 2011.

ZHEN W., SHAO Y., CONG X., WU Y., GENG Y., WANG Z., GUO Y. Effect of dietary *Bacillus coagulans* supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens challenged by *Salmonella enteritidis*. **Poultry Science** 97:2654–2666, 2018.

ZHOU M., ZENG D., NI X., TU T., YIN Z., PAN K., JING B. Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth performance and expression of lipid metabolism-related genes in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. **Lipids in Health and Disease** 15(1):48, 2016.

ZHOU X., WANG Y., GU Q., LI W. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of guangxi yellow chicken. **Poultry Science**. 89:588– 593, 2010.

ZHUI L.I., WEIWEI W., DAN L., YUMING G. Effects of *Lactobacillus acidophilus* on the growth performance and intestinal health of broilers challenged with *Clostridium perfringens*. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. 9, 25–35, 2018.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta de um programa nutricional isento de aditivos melhoradores de desempenho comparado a um programa com uso de simbiótico, em situação de desafio entérico ou não, sobre a saúde intestinal e o desempenho de frangos de corte.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do uso de produto simbiótico via ração, em condições normais ou de desafio entérico sobre os seguintes parâmetros:

- peso vivo; ganho de peso; consumo de ração e conversão alimentar;
- morfometria intestinal;
- resistência e elasticidade da mucosa do duodeno;
- avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal;
- capacidade proliferativa celular da mucosa intestinal

CAPÍTULO 1 – EFEITO DO USO DE SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A UM DESAFIO ENTÉRICO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta de um programa nutricional isento de aditivos melhoradores de desempenho comparado a um programa com uso de simbióticos, em situação de desafio entérico ou não, sobre a saúde intestinal e o desempenho de frangos de corte. O experimento foi realizado no biotério de aves da UFPR Setor Palotina. Foram utilizados 864 pintos de corte, machos de 1 dia de idade, linhagem Cobb. As aves foram distribuídas aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 2 x 2 (2 dietas vs 2 condições sanitárias), totalizando 4 tratamentos com 12 repetições de 18 aves por gaiola, totalizando 48 unidades experimentais. Os tratamentos utilizados foram dieta controle (Dieta A); dieta controle + simbiótico (Dieta B); dieta A + desafio entérico e dieta B + desafio entérico. Aos 14 dias de idade, foi aplicado o desafio entérico com vacina comercial para coccidiose (20 vezes a recomendada pelo fabricante) seguido da inoculação contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™). O desafio entérico resultou em pior desempenho produtivo em todas as fases avaliadas, e alterou a morfometria da mucosa intestinal, cinco dias após o desafio. Aos 35 dias de idade, três semanas após o desafio entérico, observou-se um processo de regeneração já em resolução. A suplementação das dietas com o simbiótico melhorou a conversão alimentar das aves aos 28 dias de idade, independentemente do desafio experimental. A suplementação com simbiótico resultou em maior força de ruptura, dureza e elasticidade da mucosa intestinal do jejuno das aves. A suplementação de dietas para frangos de corte com simbiótico deve ser de forma contínua para assegurar a colonização e o equilíbrio da microbiota e resultar em melhor desempenho produtivo.

Palavras-chave: microbioma, simbiótico, melhoradores de desempenho.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the response of a nutritional program free of performance enhancing additives compared to a program with the use of synbiotics, in context of enteric challenge or not, on the intestinal health and zootechnical performance of broilers. The experiment was carried out in the poultry vivarium of UFPR Sector Palotina. A total of 864 broilers, 1-day-old male, Cobb lineage, were used. The broilers were randomly distributed in a completely randomized design, 2 x 2 factorial (2 diets vs 2 sanitary conditions), totaling 4 treatments with 12 replicates of 18 birds per cage, totaling 48 experimental units. The treatments used were control diet (Diet A); control + synbiotic diet (Diet B); diet A + enteric challenge and diet B + enteric challenge. At 14 days of age, the enteric challenge with a commercial coccidiosis vaccine (20 times that recommended by the manufacturer) was applied, followed by inoculation containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™). The enteric challenge resulted in worse productive performance in all evaluated phases and altered the morphometry of the intestinal mucosa, 5 days after the challenge. At 35 days of age, 3 weeks after the enteric challenge, it was observed a regeneration process in resolution. The supplementation of the diets with synbiotic improved feed conversion at 28 days of age independent of the experimental challenge. Synbiotic supplementation showed greater results in the parameters of strength, hardness and elasticity of the intestinal mucosa of the jejunum of birds. Supplementation of diets for broilers with synbiotic must be continuous to ensure colonization and balance of the microbiota and result in better productive performance.

Keywords: microbiota, synbiotic, performance enhancing additives.

INTRODUÇÃO

A demanda mundial por carnes tem aumentado anualmente, e os consumidores, além de quantidade, têm buscado também produtos com qualidade certificada, que proporcionem segurança alimentar, preocupados com a saúde pública, tema cada vez mais recorrente.

Pensando nisto, os mercados têm realizado restrições de uso de produtos que possam ser considerados de risco para saúde pública, e neste sentido os antibióticos promotores de crescimento têm sido banidos. Na Europa trata-se de assunto antigo, uma vez que desde 2006 estão restritos. No Brasil, nos últimos 5 anos várias Instruções Normativas foram publicadas pelo MAPA no intuito de promover restrições ao uso destas substâncias, como a Instrução Normativa número 45 (2016) e a Instrução Normativa número 01 (MAPA, 2020).

Estes fatores tornam essencial o desenvolvimento de estratégias que

possibilitem a continuidade da produção eficiente, apesar da não utilização dos antibióticos como promotores de crescimento, dentre elas, a nutrição, que deve ser adequada a todo momento no intuito de buscar o melhor desempenho e, simultaneamente ser uma dieta com capacidade imunogênica. Neste sentido, em muitos momentos faz-se necessário adotar um programa alternativo ao uso de antibióticos promotores de crescimento, geralmente baseado em alguns aditivos via ração. Muitas terapias não antibióticas, que incluem a administração de exclusão competitiva como probióticos (WANG et al., 2017; WHELAN et al., 2018), prebióticos (KEERQIN et al., 2017) e óleos essenciais (BRENES e ROURA, 2010) têm demonstrado propriedades bacteriostáticas (CALIK e ERGÜN, 2015).

Dentre os aditivos, o uso de probióticos ou microrganismos via dieta têm recebido grande atenção devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana contra antibióticos e, posteriormente, as mencionadas proibições de antibióticos promotores de crescimento na produção animal (LEKSHMI et al., 2017). Diferentes cepas têm distintos modos de ação, como competição por nutrientes e adesão com patógenos entéricos. As bactérias probióticas auxiliam na digestão e absorção de nutrientes, produzindo enzimas hidrolíticas, como amilase, lipase e protease. Além disso, essas bactérias benéficas aumentam a imunidade modulando o sistema imunológico do hospedeiro e alterando atividades microbianas no intestino (POURABEDIN et al., 2015).

A produção comercial é extremamente desafiadora para as aves, uma vez que os desafios ambientais e microbiológicos estão presentes durante todo o período de produção, assim, o trato gastrointestinal permanece em inflamação fisiológica durante a maior parte do tempo, e uma elevada exposição a patógenos pode transformar esta inflamação em patológica. Desta forma, é de extrema importância que a regeneração e reconstituição da integridade do epitélio seja rápida devido à complexidade multifuncional desta mucosa. Uma troca celular (turnover) intestinal total pode acontecer entre 24 a 96 horas, o que representa quase 10% do ciclo de vida do frango de corte (GOTTARDO et al., 2016).

Com isso, o objetivo do estudo foi avaliar a resposta de um programa nutricional com uso de simbióticos atuando como melhoradores de desempenho,

em situação de desafio entérico ou não, sobre a qualidade intestinal e desempenho de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados nas aves foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, processo CEUA 18/2020.

Delineamento experimental

Foram alojados oitocentos e sessenta e quatro pintos de corte, machos, de linhagem Cobb e distribuídos aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 2 x 2 (duas dietas: controle e suplementada com simbióticos e duas condições de desafios sanitários: sem e com desafio), totalizando 4 tratamentos com 12 repetições de 18 aves por gaiola, e 48 unidades experimentais:

Tratamento 1: dieta controle

Tratamento 2: dieta controle + simbiótico

Tratamento 3: dieta controle + desafio entérico

Tratamento 4: dieta controle + simbiótico + desafio entérico

As aves foram alojadas em duas salas com ambiência e espaçamento idênticos de acordo com os tratamentos, 1 + 2 e 3 + 4, respectivamente. As aves foram alojadas em gaiolas experimentais com temperatura ambiental mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlados por um sistema automatizado. A cama utilizada foi de papel triturado. Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

Foram formuladas três dietas, fase pré-inicial (1° ao 7° dia), inicial (8° ao 20° dia), crescimento (21° ao 35° dia) conforme as exigências nutricionais das diferentes fases das aves. O simbiótico utilizado na dieta é composto por *Bacillus coagulans* (5×10^7 UFC/g), *Bacillus licheniformis* (5×10^8 UFC/g), *Bacillus subtilis* (5×10^8 UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* (5×10^7 UFC/g), *Saccharomyces*

cerevisae (2×10^7 UFC/g) e Mananoligossacarídeo (2 g/kg), de modo que a dosagem de produto, fornecida conforme indicação de uso do fabricante, foi de 200 g/ton de ração na fase pré-inicial e 100 g/ton de ração nas demais fases.

Aos 14 dias de idade, os grupos de aves desafiadas (tratamentos 3 e 4) receberam vacina comercial para coccidiose com as espécies *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*. A vacina foi inoculada diretamente no inglúvio de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina (± 80.000 oocistos esporulados). Dois dias após a administração da vacina, um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10^9 UFC/dia/ave foi preparado e inoculado diretamente no inglúvio de cada ave dos grupos desafiados.

Parâmetros dos desempenhos zootécnicos

O peso corporal foi registrado semanalmente durante o período do experimento (7°, 14°, 21°, 28° dia). O ganho de peso médio foi registrado a partir do cálculo da diferença entre os pesos de cada período, dividido pelo número de aves. O consumo médio de ração foi obtido a partir do cálculo da diferença entre o consumo e a sobra de ração de cada período, dividido pelo número total de aves de cada repetição. A taxa de conversão alimentar foi calculada com o peso da ração consumida dividido pelo ganho de peso, não foi necessário descontar aves mortas pois não houve mortalidade durante o experimento.

Análises da morfometria da mucosa intestinal

No 19° e 35° dia, 24 aves de cada tratamento foram eutanasiadas para coleta fragmentos intestinais, duodeno, jejuno e íleo. As amostras, de aproximadamente 5 cm, foram dissecadas e fixadas em formol a 10% tamponado e emblocadas em parafina. Seções de 5 μ m de espessura foram preparadas e coradas em hematoxilina e eosina.

Tabela 1: Composição nutricional das dietas experimentais.

Ingredientes	Pré-inicial		Inicial		Crescimento	
	Contr.	Simbiótico	Contr.	Simbiótico	Contr.	Simbiótico
Milho	519,61	519,61	533,33	533,33	602,57	602,57
Farelo de Soja (46%)	411,08	411,08	400,00	400,00	333,33	333,33
Óleo de Soja	30,39	30,39	33,92	33,92	33,33	33,33
Calcário Calcítico 35%	12,55	12,55	10,90	10,90	11,59	11,59
Fosfato Bicálcico 18%	11,76	11,76	9,61	9,61	7,18	7,18
Sal Comum	4,902	4,902	4,902	4,902	4,274	4,274
Lisina	2,451	2,451	1,843	1,843	2,564	2,564
DL-Metionina	3,039	3,039	2,745	2,745	2,427	2,427
L-Treonina	0,735	0,735	0,314	0,314	0,530	0,530
Cloreto Colina 60%	-	-	0,235	0,235	-	-
Colina 20,8%	1,176	1,176				
B.H.T.	0,100	0,100	0,098	0,098	0,100	0,100
Caulim	0,200		0,100		0,100	
Aditivo Simbiótico		0,200		0,100		0,100
Premix Vit. + Min. ¹	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Níveis Nutricionais calculados						
Energia Met., kcal/kg	2.977	2.977	3.024	3.024	3.099	3.099
Proteína Bruta, %	23,48	23,48	22,99	22,99	20,52	20,52
Fibra Bruta, %	3,50	3,50	3,47	3,47	3,25	3,25
Cálcio, %	0,967	0,967	0,855	0,855	0,803	0,803
Fósforo Disponível, %	0,461	0,461	0,421	0,421	0,370	0,370
Bal. Eletrolítico, mEq/kg	236,81	236,81	233,19	233,19	203,81	203,81
Lisina Digestível, %	1,303	1,303	1,244	1,244	1,122	1,122
Metionina Digestível, %	0,633	0,633	0,599	0,599	0,537	0,537
Metionina+Cistina Dig., %	0,959	0,959	0,921	0,921	0,831	0,831
Triptofano Digestível, %	0,262	0,262	0,256	0,256	0,222	0,222
Treonina Digestível, %	0,862	0,862	0,807	0,807	0,740	0,740
Arginina Digestível, %	1,487	1,487	1,457	1,457	1,269	1,269

¹Premix vitamínico e mineral inicial (níveis por kg de premix): Vitamina A (KUI/kg 6.500,000); Vitamina D3(KUI/kg 1.625,000); Vitamina E (UI/kg 22.500,000) Vitamina K3 (mg/kg 1.250,080); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 749,700); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 3.000,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1.500,380); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mcg/kg 6.000,000); Acido Pantatênico (mg/kg 5.999,560) Niacina (mg/kg 12.499,900); Ácido Fólico (mg/kg 399,840); Biotina (mcg/kg 75.000,000); Manganês (ppm 39.999,960); Zinco (ppm 40.000,100); Ferro (ppm 24.999,900); Iodo (ppm 550,200); selênio (ppm 150,000); BHT (ppm 300,000); Fitase (g/kg 250,000).

Premix vitamínico e mineral crescimento: Vitamina A (KUI/kg 6.000,000); Vitamina D3(KUI/kg 1.500,000); Vitamina E (UI/kg 20.000,000) Vitamina K3 (mg/kg 999,960); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 599,760); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2.500,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1.250,480); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mcg/kg 4.800,000); Acido Pantatênico (mg/kg 4.800,040) Niacina (mg/kg 9.999,920); Ácido Fólico (mg/kg 349,860); Biotina (mcg/kg 50.000,000); Manganês (ppm 39.999,960); Zinco (ppm 40.000,100); Ferro (ppm 24.999,900); Iodo (ppm 550,200); selênio (ppm 150,000); BHT (ppm 300,000); Fitase (g/kg 250,000).

Premix vitamínico e mineral final: Vitamina A (KUI/kg 3.500,000); Vitamina D3(KUI/kg 1.250,000); Vitamina E (UI/kg 12.000,000) Vitamina K3 (mg/kg 699,920); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 399,840); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 1.500,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 749,700); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mcg/kg 3.000,000); Acido Pantatênico (mg/kg 2.999,780) Niacina (mg/kg 6.500,340); Ácido Fólico (mg/kg 199,920); Biotina (mcg/kg 25.000,000); Manganês (ppm 39.999,960); Zinco (ppm 40.000,100); Ferro (ppm 24.999,900); Iodo (ppm 550,200); selênio (ppm 150,000); BHT (ppm 300,000); Fitase (g/kg 250,000).

Fonte: O AUTOR (2021).

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 Kisielinski et al. (2002).

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

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

A ultraestrutura intestinal foi realizada apenas em seções do íleo após fixação da amostra em glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato 0,1 M (pH 7,4). Os tecidos foram lavados em solução tampão e fixados em tetróxido de ósmio a 1% durante 1 hora, imersos em ácido tânico 1% por 1 hora, e desidratados em séries crescentes de etanol. Após a obtenção do ponto crítico de secagem utilizando CO₂, os fragmentos foram revestidos por íons de ouro e fotografados em microscópio eletrônico de varredura, modelo TESCAN VEGA3.

Resistência e elasticidade da mucosa do intestino

Das mesmas aves (24 aves/tratamento) foram coletados fragmentos de íleo, de aproximadamente 8 cm, os quais imersos em solução fisiológica por 24hs para realização do ensaio de flexão. Com auxílio do dispositivo de fixação para teste de perfuração adaptada ao texturômetro (Modelo TA-XT2i, Stable Mycro Systems LTDA., Goldalming, UK) foram obtidos a taxa de deformação constante para material visco-elástico, a força de ruptura (kg) e elasticidade (mm) da mucosa do íleo. Os parâmetros utilizados foram: velocidade de 1 mm/s, força do disparo de 10 g e tensão de 15 mm.

Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal

A permeabilidade intestinal foi avaliada pela titulação dos níveis séricos de isotiocianato de dextrano de fluoresceína (FITC-d). No 19º dia, foi administrado por via oral (0.55 mg/kg FITC-d), em 1 ave/repetição. Após 2 horas, as aves foram

eutanasiadas, o sangue coletado, mantido em temperatura ambiente para coagulação, centrifugado para obtenção do soro e, então, armazenados em freezers para posterior análise. A fluorescência dos níveis séricos de FITC-d foi obtida em comprimento de onda de excitação 485 nm e de emissão 528 nm. A concentração de FITC-d por mL de soro foi calculada com base em uma curva de concentrações FITC-d conhecidas.

Análise da capacidade proliferativa das células intestinais

A atividade proliferativa das células intestinais foi analisada por imunohistoquímica para PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) em cortes do jejuno, de aproximadamente 5µm. Os cortes foram diafanizados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de álcool, tratados em peróxido de hidrogênio a 3%, seguido por incubação com ácido cítrico à 10mM, pH 6,0 no microondas. Depois de lavados em PBS, os cortes foram tratados com 1% BSA em PBS por 1 h, incubados com anticorpo monoclonal anti-PCNA (FL-261; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, Ca, USA) e detectados com anticorpo policlonal anti-*rabbit*. De cada lâmina foram capturadas três imagens da região da cripta (objetiva de 40x), e as células PCNA positivas por mm² foram medidas e quantificadas.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 7 dias de idade, não foram observadas diferenças significativas para nenhum parâmetro produtivo (Tabela 2). Aos 14 dias, a adição do simbiótico na dieta proporcionou aos frangos de corte melhor ($p < 0,001$) conversão alimentar e maior ($p < 0,054$) ganho de peso semanal (Tabela 2). Esse resultado evidencia que é possível melhorar a produtividade com o uso alternativo de aditivos zootécnicos, mesmo em ambientes experimentais cujas variáveis são controladas e isentas de desafio que comprometa o bem-estar e a saúde animal

Tabela 2: Desempenho produtivo de frangos de corte de 1 a 7 dias e de 7 a 14 dias de idade suplementados ou não com simbiótico.

Dieta	Peso corporal, g		Ganho de peso, g		Consumo de ração, g		Conversão alimentar	
	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Basal	188,27	417,24	146,52	225,84 ^a	139,55	280,29	0,952	1,243 ^a
Simbiótico	186,73	418,72	145,05	233,00 ^b	140,42	274,51	0,965	1,182 ^b
CV%	2,14	3,42	2,72	5,47	3,11	5,00	3,31	5,012
<i>p</i> -valor	0,2298	0,7213	0,2416	0,054	0,5000	0,1649	0,1761	0,0001

CV: Coeficiente de variação. Valores com letras sobrescritas diferentes na coluna são significativamente diferentes

Esta influência positiva na conversão alimentar das aves é corroborada com os resultados publicados por Leite et al. (2020) e He et al., (2019), os quais evidenciam a taxa de conversão alimentar como sendo um dos principais fatores nos resultados de desempenho zootécnico em dietas suplementadas com simbióticos ou probióticos. Essa melhoria da conversão alimentar é, em geral, atribuída as cepas *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus coagulans*, todas do gênero *Bacillus sp*, não patogênicas, formadoras de esporos, amplamente utilizadas na avicultura industrial dado a resistência às maiores temperaturas utilizadas no processo de fabricação das rações, atribuem maior prazo de validade aos produtos comerciais, sobrevivem ao baixo pH, a bile e a demais moléculas antimicrobianas presentes no trato gastrointestinal (CIURESCU et al., 2020). Atuam, particularmente, como promotoras de crescimento por secretarem amplo espectro de enzimas como lipase, protease, amilase, dentre outras, que favorecem a digestão e absorção dos nutrientes, conseqüentemente, otimizando o aproveitamento dos alimentos (HMANI et al., 2017; HOFACRE et al., 2019). Autores ainda atribuem aos bacilos a melhora da morfologia intestinal com descrições do aumento da altura dos vilos, melhor relação vilo e cripta, aumento da área de absorção e maior expressão de enzimas na borda em escova, o que conduz maior desempenho de crescimentos dos animais (MA et al., 2018).

No 14° dia de vida foi realizado o protocolo de desafio entérico e os dados zootécnicos no período de 5 dias após o desafio (14 a 19 dias), 7 dias após o desafio (19 a 21 dias) e o período total da semana após o desafio (14 a 21 dias)

são apresentados nas tabelas 3, 4 e 5, respectivamente.

Entre o 14° e o 19° dia, observou-se que o desafio entérico afetou o desempenho produtivo: menor ganho de peso ($p < 0,001$), menor consumo de ração ($p < 0,029$) e pior conversão alimentar ($p < 0,001$) independentemente das dietas (tabela 3). Em relação às dietas experimentais, o consumo da dieta controle resultou em melhor conversão alimentar ($p < 0,012$).

Tabela 3: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 14 a 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta			
Basal	249,98	331,57	1,338 ^b
Simbiótico	241,34	334,05	1,394 ^a
Desafio			
Controle	266,49 ^a	338,66 ^a	1,275 ^b
Desafiados	224,83 ^b	326,94 ^b	1,458 ^a
Dieta basal+controle	274,86	340,59	1,240
Dieta basal+desafio	225,09	322,54	1,436
Simbiótico+controle	258,12	336,73	1,309
Simbiótico+desafio	224,57	331,34	1,479
CV%			
Dieta	0,114	0,638	0,012
Desafio	<,0001	0,029	<,0001
Dieta x Desafio	0,137	0,230	0,557

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Entre o 19° e o 21° dia, observou-se o mesmo comportamento em relação ao desafio entérico. As aves submetidas ao desafio, independentemente das dietas, apresentaram menor ganho de peso ($p < 0,001$), menor consumo de ração ($p < 0,001$), e pior conversão alimentar ($p < 0,0002$) (tabela 4). As dietas influenciaram a conversão alimentar, da mesma forma que observada no período anterior.

Tabela 4: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 19 a 21 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta			
Basal	185,88	257,58	1,333 ^b
Simbiótico	188,12	260,11	1,421 ^a
Desafio			
Controle	211,37 ^a	272,93 ^a	1,291 ^b
Desafiados	162,64 ^b	244,75 ^b	1,463 ^a
Dieta basal+controle	209,23	271,84	1,280
Dieta basal+desafio	162,53	243,31	1,385
Simbiótico+controle	213,50	274,02	1,301
Simbiótico+desafio	162,74	246,20	1,541
CV%	15,59	7,69	9,75
Dieta	0,791	0,661	0,0394
Desafio	<.0001	<.0001	0,0002
Dieta x Desafio	0,810	0,951	0,1131

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes

($p < 0,05$)

Os resultados de desempenho zootécnico das aves corroboram com os achados descritos por El-Sawah et al. (2018) cujos melhores resultados foram do tratamento controle negativo, denominado como ausente de suplementação com simbiótico bem como ausente de desafio entérico. No entanto, ambos resultados divergem das descrições de Leite et al. (2020) as quais apontam melhores resultados de desempenho zootécnico para os grupos que receberam suplementação na dieta com probiótico ou com simbiótico para o mesmo período até 21 dias. Essas divergências nos resultados de desempenho zootécnico, em geral, são atribuídas à distintas variáveis que compõem o delineamento experimental de cada estudo, tais como diferentes composições da dieta e formulações simbióticas utilizadas no delineamento, a concentração de indicação de uso da suplementação simbiótica, às condições ambientais de manejo, tais como, tipo de alojamento, de cama, temperatura, espaço disponível, estresses e, cita-se, particularmente ao presente trabalho, o período em que foi realizado o desafio entérico.

Considerando o período total entre 14 e 21 dias, ou seja, uma semana pós-infecção, observou-se o efeito significativo do desafio entérico sobre todas as variáveis de desempenho analisadas independentemente das dietas. O desafio

entérico interferiu no ganho de peso ($p < 0,001$), no consumo de ração ($p < 0,0001$) e na conversão alimentar ($p < 0,001$) (tabela 5).

Tabela 5: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 14 a 21 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta			
Basal	435,86	589,14	1,365
Simbiótico	429,47	590,07	1,399
Desafio			
Controle	477,85 ^a	607,52 ^a	1,283 ^b
Desafiados	387,47 ^b	571,69 ^b	1,481 ^a
Dieta basal+controle	484,09	612,43	1,267
Dieta basal+desafio	387,62	565,85	1,463
Simbiótico+controle	471,62	602,61	1,300
Simbiótico+desafio	387,31	577,54	1,499
CV%			
Dieta	0,539	0,9121	0,138
Desafio	<,0001	0,0001	<,0001
Dieta x Desafio	0,559	0,2059	0,946

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes

($p < 0,05$)

Essa resposta pode ser atribuída ao possível deslocamento energético das aves desafiadas em desenvolver uma resposta imunológica e de regeneração de mucosa intestinal apta a conter a proliferação do patógeno.

Entre o 21° e o 28° dia, o efeito negativo do desafio entérico ainda se mantém sobre o ganho de peso das aves ($p < 0,0431$). A suplementação das dietas com produto simbiótico reduziu o ganho de peso ($p < 0,001$) e o consumo de ração ($p < 0,001$) (tabela 6). Não foi observada interação significativa entre desafio entérico e dieta para nenhuma variável analisada.

Tabela 6: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 21 a 28 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta			
Basal	670,62 ^a	1058,20 ^a	1,572
Simbiótico	607,62 ^b	979,81 ^b	1,614
Desafio			
Controle	625,11 ^b	1012,78	1,606
Desafiados	653,14 ^a	1027,20	1,581
Dieta basal+controle	663,60	1052,38	1,573
Dieta basal+desafio	677,65	1064,01	1,571
Simbiótico+controle	586,61	973,18	1,639
Simbiótico+desafio	628,62	987,05	1,591
CV%	7,29	5,15	4,82
Dieta	<,0001	<,0001	0,0668
Desafio	0,0431	0,4105	0,2728
Dieta x Desafio	0,3045	0,9420	0,3094

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Os resultados de desempenho produtivo observados durante todo o período, compreendido entre 1 e 28 dias de idade mostram que não houve diferença no peso médio e ganho de peso das aves suplementadas com dieta basal ou com simbiótico. Entretanto, o consumo de ração e a conversão alimentar foram alteradas pelo consumo do simbiótico. Houve menor ($p = 0,0023$) consumo de ração e melhor conversão alimentar ($p = 0,0046$) pelas aves que receberam o simbiótico (tabela 7).

Tabela 7: Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 1 a 28 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico

	Peso Médio, g	Consumo ração, g	Ganho de peso, g	Conversão alimentar
Dieta				
Basal	1490,18	2066,65 ^a	1448,06	1,431 ^a
Simbiótico	1498,45	1996,52 ^b	1456,82	1,376 ^b
Desafio				
Controle	1566,07 ^a	2038,89	1523,93 ^a	1,340 ^b
Desafiados	1422,56 ^b	2024,29	1380,94 ^b	1,467 ^a
Dieta basal+controle	1560,65	2080,73	1518,22	1,371
Dieta basal+desafio	1419,71	2052,57	1377,90	1,490
Simbiótico+controle	1571,49	1997,04	1529,64	1,309
Simbiótico+desafio	1425,41	1996,00	1383,99	1,444
CV%	4,30	3,70	4,42	4,47
Dieta	0,6578	0,0023	0,6392	0,0046
Desafio	<,0001	0,5042	<,0001	<,0001
Dieta x Desafio	0,8902	0,5348	0,8865	0,6478

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Conforme observado, os resultados de desempenho avaliados durante o período da realização do desafio entérico e a suplementação da dieta com simbiótico foram, em alguns períodos, desfavoráveis (tabelas 3, 4 e 6). Como o simbiótico possui cepas probióticas que podem de início ocasionar desequilíbrio da microbiota intestinal e na sequência uma reorganização da microbiota, entretanto, isso demanda tempo. Deste modo fica evidente que produtos desta classe necessitam suplementação prolongada; ou até mesmo contínua; para atuar satisfatoriamente na reorganização da microbiota, restabelecimento da eubiose, adequação da resposta imune e resultar em melhor desempenho.

Esta hipótese de que os probióticos precisam de um tempo adicional para atuar foi também levantada por Nakphaichit et al., (2011). Esses pesquisadores administraram *Lactobacillus reuteri* para frangos de corte somente durante a primeira semana do ciclo de vida e então procederam com o monitoramento da microbiota do íleo; através de sequenciamento do gene RNA 16S; por um período de 6 semanas. Este estudo concluiu que os probióticos administrados em fases iniciais somente resultaram em efeitos positivos a partir de 6 semanas, demonstrando grande diversidade e abundância de *Lactobacillus* e redução significativa na presença de patógenos, quando comparado com o controle. Estes dados reafirmam os resultados encontrados no desempenho ao se considerar o período total de 1 a 28 dias de idade, onde se observa ganho de peso igual entre a dieta basal e dieta contendo simbiótico, porém observa-se menor consumo de alimento e ($p < 0,05$) e melhor conversão alimentar ($p < 0,05$) favorável aos grupos que receberam dieta contendo simbiótico (tabela 7).

No 19° e 35° dia de idade, foi avaliada a morfometria da mucosa do duodeno, jejuno e íleo. Nas análises morfométricas da mucosa do duodeno, aos 19 dias de idade (tabela 8), o desafio interferiu na largura do vilão ($p = 0,0213$), na profundidade da cripta ($p < 0,0001$) e na relação vilão:cripta ($p = 0,0225$), independentemente da inclusão do simbiótico. Essas alterações morfológicas observadas são indicativas do processo de regeneração e da tentativa de retorno à homeostase intestinal. Os resultados de desempenho observados nessa idade apresentam o mesmo comportamento, o que demonstra que o modelo de desafio entérico utilizado nesse estudo pode ser utilizado como modelo para avaliação de aditivos nutricionais.

Tabela 8: Morfometria da mucosa do duodeno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	570,11	69,32	81,59	24,84	78,19	7,04	18,50
Simbiótico	588,82	69,41	80,52	25,11	80,90	7,18	18,58
Desafio							
Controle	564,41	66,74 ^b	74,97 ^b	24,63	79,52	7,40 ^a	18,60
Desafiados	594,52	72,00 ^a	87,14 ^a	25,32	79,56	6,82 ^b	18,48
Dieta basal+controle	561,45	65,48	75,72	24,57	76,73	7,32	18,86
Dieta basal+desafio	578,77	73,16	87,46	25,11	79,65	6,75	18,13
Simbiótico+controle	567,36	68,00	74,22	24,68	82,32	7,47	18,33
Simbiótico+desafio	610,27	70,83	86,82	25,53	79,47	6,89	18,84
CV%	18,27	15,21	13,60	14,15	20,90	15,40	13,98
Dieta	0,4211	0,9667	0,6457	0,7207	0,4404	0,5531	0,8806
Desafio	0,1966	0,0213	<,0001	0,3493	0,9906	0,0225	0,8477
Dieta x Desafio	0,5818	0,2822	0,8523	0,8322	0,4108	0,9943	0,2932

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscular, VC: relação comprimento do vilão:profundidade da cripta, AA: área de absorção.

As análises morfométricas da mucosa do jejuno, aos 19 dias de idade (tabela 9), mostraram que a dieta basal resultou em maior comprimento dos vilões ($p < 0,0285$) em comparação à dieta suplementada com simbiótico, o que pode ser atribuído a reorganização da microbiota ocasionada pelo desafio entérico, somado à suplementação de cepas probióticas, que necessitam de mais tempo para reorganização celular e microbiana intestinal. Em relação ao desafio entérico, observou-se grupo desafio resultou em maior largura do vilão ($p = 0,0008$), maior profundidade da cripta ($p < 0,0001$), maior largura da cripta ($p < 0,0001$), maior espessura da camada muscular ($p = 0,0013$), que resultaram em menor relação vilão:cripta ($p < 0,0001$) e menor área de absorção ($p < 0,0001$).

Tabela 9: Morfometria da mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	355,06 ^a	51,75	67,41	23,36	75,01	5,34	13,28
Simbiótico	328,54 ^b	53,29	67,89	23,70	75,15	5,05	12,61
Desafio							
Controle	353,19	50,81 ^b	59,26 ^b	20,52 ^b	70,14 ^b	5,95 ^a	14,27 ^a
Desafiados	330,42	54,23 ^a	76,05 ^a	26,55 ^a	80,02 ^a	4,45 ^b	11,63 ^b
Dieta basal+controle	364,49	49,91	59,77	20,45	69,83	6,01	14,45
Dieta basal+desafio	345,63	53,59	75,05	26,27	80,20	4,68	12,12
Simbiótico+controle	341,89	51,70	58,74	20,59	70,46	5,88	14,09
Simbiótico+desafio	315,20	54,87	77,05	26,82	79,84	4,23	11,14
CV%	16,91	8,53	14,58	12,65	18,68	20,03	19,06
Dieta	0,0285	0,1226	0,8176	0,5903	0,9639	0,1872	0,2055
Desafio	0,0592	0,0008	<,0001	<,0001	0,0013	<,0001	<,0001
Dieta x Desafio	0,7431	0,7960	0,4658	0,7433	0,8670	0,4742	0,5580

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscular, VC: relação comprimento do vilão:profundidade da cripta, AA: área de absorção.

Os resultados da avaliação morfométrica de íleo, cinco dias após o desafio (tabela 10) indicam que o grupo desafio teve interferência em todos os parâmetros, exceto no comprimento do vilão. Observa-se diferença na largura do vilão ($p = 0,0360$), na profundidade da cripta ($p < 0,0001$), largura de cripta ($p < 0,0001$), espessura da camada muscular ($p = 0,0405$), na relação vilão:cripta ($p < 0,0004$) e área de absorção ($p < 0,0038$).

A alteração da morfometria da mucosa do íleo mostra que o desafio entérico alterou o equilíbrio da microbiota e em resposta houve aumento do diâmetro em função dos gases produzidos pelo processo fermentativo, principalmente em decorrência do aumento da presença de *C. Perfringens* (PAIVA e MCELROY, 2014), o que explica a redução da espessura da camada muscular do íleo.

Tabela 10: Morfometria da mucosa do íleo de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	261,72	57,77	63,65	22,80	113,92	4,22	9,94
Simbiótico	249,30	58,50	62,17	22,58	111,23	4,09	9,46
Desafio							
Controle	251,48	56,87 ^b	57,86 ^b	20,31 ^b	117,94 ^a	4,44 ^a	10,24 ^a
Desafiados	259,55	59,39 ^a	67,96 ^a	25,08 ^a	107,20 ^b	3,86 ^b	9,16 ^b
Dieta basal+controle	256,52	57,13	59,37	20,69	121,81	4,40	10,31
Dieta basal+desafio	266,92	58,40	67,93	24,91	106,02	4,03	9,57
Simbiótico+controle	246,44	56,62	56,34	19,92	114,07	4,49	10,17
Simbiótico+desafio	252,17	60,38	67,99	25,25	108,39	3,69	8,76
CV%	15,39	9,69	16,05	15,10	21,88	18,19	17,74
Dieta	0,1316	0,5360	0,4807	0,7559	0,6042	0,4221	0,1871
Desafio	0,3254	0,0360	<,0001	<,0001	0,0405	0,0004	0,0038
Dieta x Desafio	0,7749	0,2952	0,4618	0,4373	0,3305	0,1695	0,3554

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilo, LV: largura do vilo, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscularura, VC: relação comprimento do vilo:profundidade da cripta, AA: área de absorção.

Aos 35 dias de idade (tabela 11), três semanas após o desafio entérico, observa-se um processo de regeneração já em resolução uma vez que a relação vilo:cripta já não foi alterada, em relação ao observado aos 19 dias de idade, assim como pode ser observado uma maior ($p < 0,0076$) área de absorção da mucosa do duodeno e maior ($p = 0,0064$) espessura da camada muscular das aves desafiadas em relação ao grupo controle.

Tabela 11: Morfometria da mucosa do duodeno de frangos de corte com idade de 35 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	707,25	77,89	62,85	22,09	81,82	11,20	22,08
Simbiótico	711,68	77,30	63,68	22,64	85,06	11,15	22,41
Desafio							
Controle	710,77	81,01 ^a	61,19 ^b	22,63	79,33 ^b	11,37	21,33 ^b
Desafiados	708,11	74,30 ^b	65,22 ^a	22,12	87,34 ^a	10,98	23,15 ^a
Dieta basal+controle	703,16	80,67	60,20	22,30	76,98	11,36	21,04
Dieta basal+desafio	710,66	75,35	65,27	21,90	86,25	11,04	23,12
Simbiótico+controle	718,38	81,35	62,19	22,96	81,67	11,38	21,62
Simbiótico+desafio	705,56	73,25	65,17	22,33	88,44	10,92	23,20
CV%	9,89	16,19	10,41	9,46	16,68	16,19	14,58
Dieta	0,7364	0,7869	0,4889	0,2184	0,2346	0,9056	0,6258
Desafio	0,8595	0,0113	0,0039	0,2406	0,0064	0,2995	0,0076
Dieta x Desafio	0,4997	0,5933	0,4432	0,7838	0,6640	0,8517	0,7156

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscular, VC: relação comprimento do vilão:profundidade da cripta, AA: área de aborção.

Já para a morfometria da mucosa do jejuno (Tabela 12), observa-se um processo ainda mais avançado de regeneração, uma vez que a única diferença observada foi com relação à largura do vilão ($p=0,0122$), onde os grupos desafiados apresentaram ainda uma menor largura. É importante ressaltar que aos 19 dias esse segmento era o mais afetado pelo desafio entérico (Tabela 9). O fato de não mais haver diferenças neste parâmetro aos 35 dias de idade demonstra que houve recuperação da mucosa intestinal devido à reorganização da microbiota ocasionada pelo tempo de fornecimento do simbiótico às aves. Estes resultados aliados ao melhor desempenho em termos de conversão alimentar no período total, mais uma vez evidenciam o efeito benéfico de produtos simbióticos quando utilizados por períodos prolongados.

Tabela 12: Morfometria da mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 35 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	429,23	51,55	51,54	21,01	84,24	8,38	17,52
Simbiótico	415,78	50,64	51,72	20,54	85,12	8,13	17,24
Desafio							
Controle	423,64	52,53 ^a	51,55	20,77	84,19	8,27	17,12
Desafiados	420,91	49,56 ^b	51,75	20,79	85,26	8,22	17,63
Dieta basal+controle	425,13	53,02	51,92	21,00	85,14	8,22	17,05
Dieta basal+desafio	432,99	50,07	51,18	21,03	83,34	8,53	17,98
Simbiótico+controle	422,15	52,05	51,17	20,54	83,24	8,32	17,19
Simbiótico+desafio	408,84	49,04	52,33	20,55	87,17	7,91	17,29
CV%	17,92	10,86	11,36	9,15	23,17	18,96	17,47
Dieta	0,3929	0,3908	0,8714	0,2396	0,8144	0,4333	0,6771
Desafio	0,8634	0,0122	0,8644	0,9613	0,7953	0,8816	0,4233
Dieta x Desafio	0,5047	0,9795	0,4372	0,9779	0,4856	0,2756	0,5192

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscular, VC: relação comprimento do vilão:profundidade da cripta, AA: área de absorção.

Aos 35 dias de idade (tabela 13), observa-se o mesmo comportamento da morfometria da mucosa do íleo em relação ao duodeno e jejuno. A menor ($p=0,0363$) largura da cripta das aves desafiadas indica que o processo de proliferação de células basais na cripta já reduziu em função da melhoria da capacidade de absorção, que resultou em desempenho produtivo superior aos 28 dias de idade (Tabela 7). Essas observações são confirmadas pela maior ($p=0,0464$) relação vilão:cripta da mucosa do íleo das aves desafiadas em relação às aves controle.

Tabela 13: Morfometria da mcosa do íleo de frangos de corte com idade de 35 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	CV, μm	LV, μm	PC., μm	LC., μm	ECM, μm	V:C	AA, μm^2
Dieta							
Basal	292,83	56,09	49,20	19,59	105,77	5,96	11,96
Simbiótico	291,45	56,00	48,85	19,53	104,19	6,06	12,02
Desafio							
Controle	287,69	55,61	50,03	19,99 ^a	102,28	5,83 ^b	11,78
Desafiados	296,40	56,46	48,04	19,14 ^b	107,60	6,18 ^a	12,20
Dieta basal+controle	287,33	56,30	49,50	19,68	100,84	5,81	11,63
Dieta basal+desafio	298,10	55,88	48,92	19,51	110,51	6,11	12,29
Simbiótico+controle	288,06	54,91	50,56	20,29	103,71	5,86	11,92
Simbiótico+desafio	294,69	57,04	47,15	18,78	104,69	6,26	12,10
CV%	16,64	10,38	12,26	9,90	20,09	13,95	14,75
Dieta	0,8940	0,9281	0,7741	0,8770	0,7362	0,5813	0,8900
Desafio	0,3880	0,4828	0,1094	0,0363	0,2244	0,0464	0,2569
Dieta x Desafio	0,8370	0,2966	0,2522	0,0968	0,3208	0,7605	0,5169

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$). CV: comprimento do vilão, LV: largura do vilão, PC: profundidade da cripta, LC: largura da cripta, ECM: espessura da camada muscular, VC: relação comprimento do vilão:profundidade da cripta, AA: área de aborção.

O desafio entérico nas aves pode ter favorecido maior aderência do patógeno na mucosa intestinal bem como a ocorrência de translocação bacteriana, o que possivelmente ocasionou o enfraquecimento da integridade intestinal seguido do aumento da taxa de renovação celular da mucosa intestinal com interferência na taxa de extrusão, o que repercutiu no aumento da largura dos vilos e da profundidade da cripta das aves desafiadas, em função, da hiperplasia ocasionada pela atividade mitótica (OHLAND e MACNAUGHTON, 2010).

Ainda, é discutida a possível perda de funcionalidade do tecido, pois ao correlacionar os resultados de morfometria da mucosa intestinal aos resultados zootécnicos, as aves desafiadas, no período de 14 a 21 dias, apresentaram menor ganho de peso, menor consumo de ração e maior taxa de conversão alimentar em relação as aves controle.

Segundo Maiorka et al. (2004), o desenvolvimento do trato gastrintestinal, como maturação funcional do intestino envolvendo mudanças fisiológicas e morfológicas, é dependente da contínua renovação celular da mucosa intestinal a qual proporcionará o aumento na área de superfície de digestão e absorção dos nutrientes. O maior aproveitamento dos nutrientes ocorre no intestino delgado,

sendo o duodeno o segmento intestinal com maior densidade e altura de vilos seguido do jejuno, ambos responsáveis pela maior parte da absorção intestinal (UNI et al., 1998). No entanto, qualquer processo de desafio entérico que promova agressão a mucosa intestinal, influenciará a atividade de reposição celular a qual consumirá as reservas energéticas do organismo da ave e da ração ingerida para repor o epitélio intestinal. Estima-se que 20% da energia bruta consumida pelo animal é utilizada para a manutenção do epitélio intestinal e estruturas anexas (MCBRIDE e KELLY, 1990; FURLAN et al., 2004).

Essa recuperação do epitélio intestinal pode ser observada nas aves desafiadas ao avaliar os parâmetros morfo-métricos no 35º dia, onde taxa de absorção do duodeno apresentou melhores resultados evidenciando a recuperação da funcionalidade do tecido, possibilitando a melhoria da conversão alimentar. Ainda, são observados a redução da largura do vilos o que remete a possível diminuição da taxa de extrusão, e maior profundidade de cripta evidenciando a manutenção da renovação epitelial. A espessura da mucosa também apresentou resultados superiores nos animais desafiados evidenciando maior número e ou volume de células intestinais (RENA et al., 2007; ARRUDA et al., 2008; ALEIXO et al., 2011).

As imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura ilustram os dados já apresentados anteriormente reforçando que o desafio entérico proposto foi eficaz e provocou lesões características no epitélio intestinal das aves desafiadas. A observação dos pontos de extrusão epitelial evidente nas aves desafiadas (Figura 1 - A) em comparação às do grupo controle (Figura 1 - B) refletem os resultados encontrados nos parâmetros de desempenho e de morfometria.

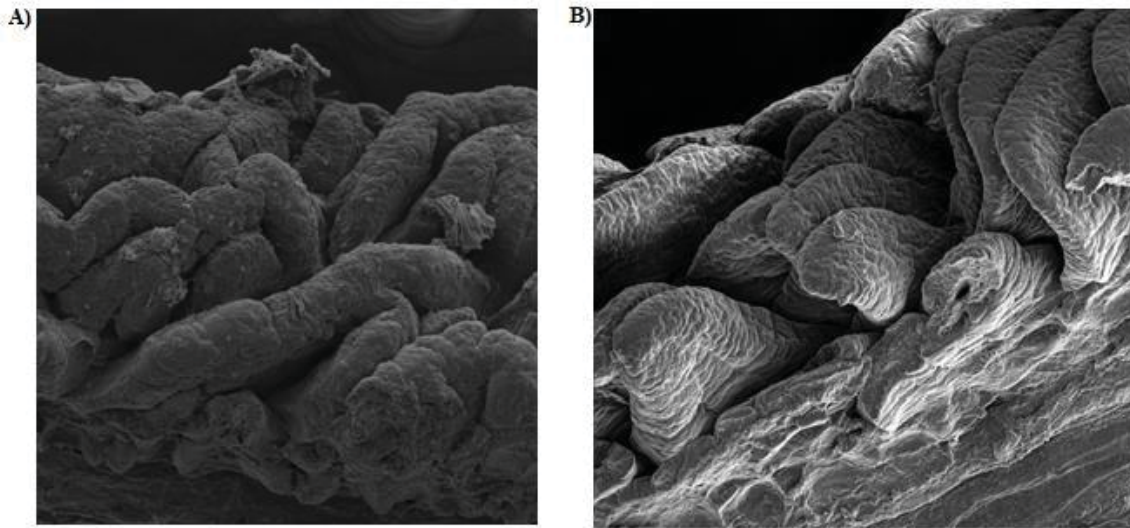


Figura 1: Imagens da mucosa do íleo de aves do grupo controle (B) e do grupo desafiado (A) 300 x.

A contagem de células PCNA-positivas na cripta da mucosa do jejuno de frangos de cortes não foi afetada pela suplementação do simbiótico ou do desafio entérico (Tabela 14). 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).

A rápida proliferação de células epiteliais é fundamental na reposição do epitélio intestinal, enquanto que 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 14: Contagem de células PCNA positivas na mucosa do jejuno de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico

	Células em mitose/mm ²
Dieta	
Basal	0,458
Simbiótico	0,436
Desafio	
Controle	0,451
Desafiados	0,444
Dieta basal+controle	0,473
Dieta basal+desafio	0,445
Simbiótico+controle	0,430
Simbiótico+desafio	0,443
CV%	33,11
Dieta	0,4654
Desafio	0,8086
Dieta x Desafio	0,5051

Aos 19 dias de idade, foi realizada análise de permeabilidade intestinal, onde foi observada maior ($p < 0,0001$) permeabilidade nos intestinos das aves desafiadas (Tabela 15 e Figura 2), o qual corrobora com os resultados obtidos nos parâmetros morfométricos cujo desafio entérico implicou em uma obstrução da integridade da parede intestinal possivelmente pela ruptura das junções de oclusão, ocasionando lesão da camada contínua de células epiteliais. Cabe ressaltar que a integridade intestinal é um indicador de eficiência para a barreira protetora formada pelo TGI, que impede a translocação paracelular de compostos indesejados, como toxinas bacterianas e microrganismos do lúmen do intestino para a lâmina própria e, posteriormente, para a corrente sanguínea (MORALES-BARRERA, 2016). Distúrbios na integridade intestinal afetam drasticamente a absorção dos nutrientes, resultando em alterações da homeostase dos organismos e no metabolismo dos substratos, comprometendo desde as funções eletrofisiológicas à barreira intestinal, consequentemente, gerando um déficit nutricional (RODRIGUES et al., 2016). Esse déficit nutricional pode ser observado com a perda de desempenho zootécnico nos animais desafiados, particularmente, no período do desafio entre o 14° e o 21° dia de vida das aves.

Tabela 15: Níveis séricos de FITC-d de frangos de corte com idade de 19 dias, suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	FITC-d ($\mu\text{g/mL}$)
Dieta	
Basal	0,248
Simbiótico	0,265
Desafio	
Controle	0,230 ^b
Desafiados	0,284 ^a
Dieta basal+controle	0,224
Dieta basal+desafio	0,276
Simbiótico+controle	0,237
Simbiótico+desafio	0,292
CV%	13,49
Dieta	0,2149
Desafio	<,0001
Dieta x Desafio	0,8665

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$)

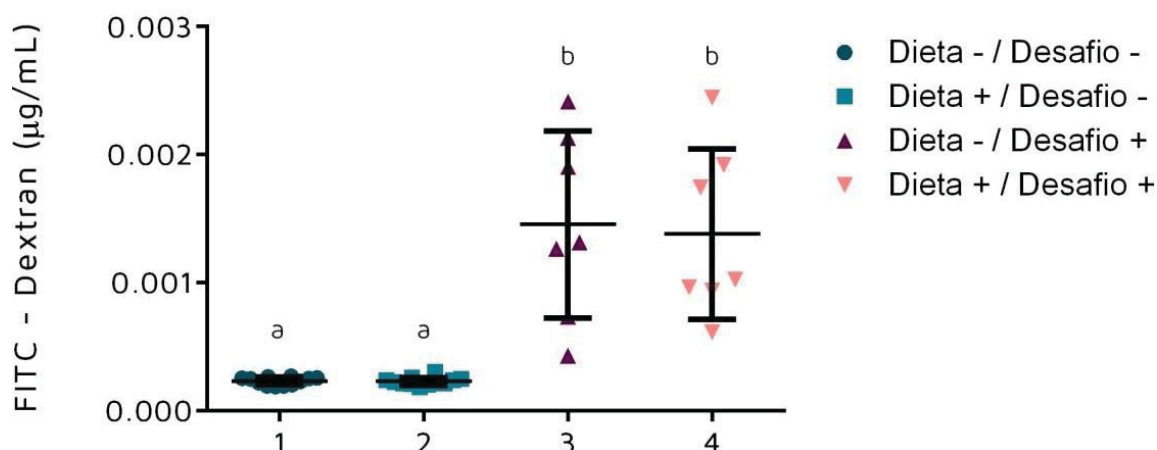


Figura 2: Concentração sérica do marcador FITC-Dextran administrado oralmente. Maiores concentrações sorológicas indicam maior permeabilidade intestinal. Cada ponto do gráfico representa uma amostra, a linha vertical representa o desvio padrão amostral e a linha

Aos 19 e 35 dias de idade foi avaliada a integridade intestinal, a partir dos parâmetros de tensão, elasticidade e dureza (Tabela 16). Aos 19 dias de idade, 5 dias após o desafio entérico, não foram observadas diferenças significativas para o desafio ou para as dietas experimentais. Porém, quando observados os mesmos parâmetros aos 35 dias de idade, os grupos que receberam aditivo simbiótico demonstraram maior força de tensão ($p=0,0067$), maior elasticidade ($p=0,0257$) e maior dureza ($p=0,0134$), evidenciando que o uso de simbiótico promoveu melhoria

de qualidade intestinal quando usado por tempo prolongado.

Tabela 16: Tensão, elasticidade e dureza de intestino de frangos de corte aos 19 e 35 dias suplementados ou não com simbiótico e submetidos ou não a um desafio entérico.

	Tensão, kg	Elasticidade, mm	Dureza, kg/seg.
19 dias			
Dieta			
Basal	0,246	37,42	1,846
Simbiótico	0,254	37,38	1,944
Desafio			
Controle	0,262	37,36	1,994
Desafiados	0,238	37,43	1,793
Dieta basal+controle	0,251	38,45	1,883
Dieta basal+desafio	0,241	36,43	1,807
Simbiótico+controle	0,275	36,23	2,110
Simbiótico+desafio	0,235	38,58	1,779
CV%	25,06	32,79	28,43
Dieta	0,4944	0,9897	0,3753
Desafio	0,0560	0,9502	0,0719
Dieta x Desafio	0,2438	0,4007	0,2577
35 dias			
Dieta			
Basal	0,515 ^b	34,71 ^b	3,405 ^b
Simbiótico	0,615 ^a	39,83 ^a	4,076 ^a
Desafio			
Controle	0,571	36,50	3,587
Desafiados	0,558	38,23	3,868
Dieta basal+controle	0,505	32,73	3,235
Dieta basal+desafio	0,525	36,69	3,581
Simbiótico+controle	0,637	39,95	3,990
Simbiótico+desafio	0,592	39,70	4,155
CV%	31,26	28,10	33,60
Dieta	0,0067	0,0257	0,0134
Desafio	0,7290	0,4115	0,3338
Dieta x Desafio	0,3722	0,3527	0,7332

Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

A eficácia dos probióticos depende de vários fatores, como a composição da mistura, o momento em que eles são administrados e a origem dos microrganismos. Parece que a eficácia das culturas probióticas é maior quando contêm um maior número de gêneros (CHAMBERS e GONG, 2011). Da mesma forma, a origem afeta a eficácia. Segundo Clavijo e Flórez (2018), cepas isoladas diretamente do intestino de frango são mais eficazes do que os de outras fontes. Além disso, a composição do probiótico pode ser benéfica para desafios entéricos específicos e seu efeito depende de quando são administrados e de que forma e quando são avaliados os

efeitos na regeneração da mucosa intestinal.

CONCLUSÃO

A suplementação da dieta com o simbiótico resultou em maior ganho de peso nas duas primeiras semanas de vida das aves, previamente ao desafio experimental.

O desafio experimental proposto alterou a permeabilidade e a integridade da mucosa intestinal das aves.

A suplementação da dieta com o simbiótico resultou em melhor conversão alimentar no período de 1 a 28 dias de idade das aves, independentemente do desafio experimental. Aos 35 dias de idade, a suplementação com o simbiótico resultou em recuperação da integridade da mucosa intestinal e da força de ruptura e dureza e elasticidade da mucosa intestinal do jejuno das aves.

A suplementação de dietas para frangos de corte com simbiótico deve ser de forma contínua para assegurar a colonização e o equilíbrio da microbiota e resultar em melhor desempenho produtivo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fica evidente que o produto simbiótico atuou satisfatoriamente antes do desafio entérico, fato comprovado pelos melhores resultados de conversão alimentar e peso aos 14 dias, assim como no período total do experimento, compreendido até 28 dias. Porém, após o desafio experimental realizado aos 16 e 18 dias de idade e até 1 semana após, não foi possível verificar resultados satisfatórios a favor do referido aditivo. Ao analisar-se o período de 1 a 28 dias houve menor consumo de ração, com melhor conversão alimentar, o que leva ao entendimento de que houve menor investimento para se obter o mesmo peso final. Para melhoria do ganho de peso, talvez fosse necessário maior tempo de consumo para que a reorganização da microbiota fosse adequada, além disso o fato de administrar-se cepas probióticas bacterianas, além da quantidade de *E. coli*

recebida pelo desafio, pode ter ocasionado uma super estimulação do sistema imune, com extremo gasto energético e, conseqüentemente, perda no desempenho.

Outro ponto interessante diz respeito ao desafio entérico, o qual foi realizado a partir da segunda semana de vida, com *Escherichia coli*. O desafio foi extremo e ficou evidenciado pela qualidade intestinal ruim observada à necropsia das aves desafiadas, assim como foi possível observar que as fezes estavam extremamente aquosas e com presença de descamação intestinal. Algo interessante a se observar é que a nível comercial geralmente os problemas com este tipo de bactéria são mais precoces, na primeira semana de vida das aves, e, a partir da segunda semana geralmente a principal preocupação é com relação a clostridioses. Portanto, é possível que o desenho atual dos aditivos desta categoria estejam direcionados a atuarem melhor contra *Clostridium* pois o mesmo ocorre mais tardiamente. Além disso, o aditivo, nesta fase, já teria maior tempo de atuação, quando administrado via dieta. Também deve ser acrescentado o fato da não utilização de nenhum tipo de promotor de crescimento ou anticoccidiano na dieta, e que a partir do momento de exposição ao desafio entérico, houve predisposição para atuação de *Eimerias*, que podem ocasionar coccidioses. Aditivos nutricionais dificilmente atuam contra coccidiose.

A partir do exposto, portanto, em caso de repetição ou realização de experimentação com modelos similares, seria interessante que os parâmetros fossem mensurados até os 42 dias de vida das aves, de modo que a reorganização da microbiota tenha tempo para acontecer, assim como o ganho compensatório após a super estimulação do sistema imune. Assim como avaliar a utilização de anticoccidiano na dieta seria algo interessante, ou, ainda, adicionar mais tratamentos que possibilitem a adição de promotores de crescimento e/ou anticoccidianos. Outro ponto de importância seria avaliação intestinal no momento da necropsia, podendo ser realizada avaliação de escores de lesão, assim como raspados intestinais para verificação de presença e contagem de eimerias.

REFERÊNCIAS

ARRUDA A.V.M., FERNANDES R.T.V., SILVA J.M., LOPES D.C. Avaliação morfo-

histológica da mucosa intestinal de coelhos alimentados com diferentes níveis de fontes de fibra. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.2, p.01-11, 2008.

ALEIXO V.M., PRESSINOITI L.N., CAMPOS D.V.S., MENEZES-ALEIXO R.C. Histologia, histoquímica e histometria do intestino de jacaré-do-Pantanal criado em cativeiro. **Pesq. Vet. Brasil.**, Cuiabá, v.31, n.12, p. 1120-1128, 2011.

BRENES A., ROURA E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, p. 1-14, 2010.

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

CHAMBERS J.R., GONG J. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. **Food Research International**. 44:3149–3159, 2011.

CIURESCU G., DUMITRU M., GHEORGHE A., UNTEA A.E., DRAHICI R. Effect of *Bacillus subtilis* on growth performance, bone mineralization, and bacterial population of broilers fed with different protein sources. **Poultry Science**. 99:11,5960-5971, 2020.

CLAVIJO V., FLOREZ M.J.V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. **Poultry Science**. 97:1006–1021, 2018.

EL-SAWAH A.A., DAHSHAN A.L.H., EL-NAHASS E., EL-MAWGOUD A.E. Pathogenicity of *Escherichia coli* O157 in commercial broiler chickens. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, 7:4. P620-625, 2018.

FURLAN R.L., MACARI M., LUQUETTI B.C. **Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva**. Anais. V Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição. Balneário Camboriú, SC, 2004

GOTTARDO E.T., PROKOSKI K, HORD D, VIOTT A.D., SANTOS T.C., FERNANDES J.I.M. Regeneration of the intestinal mucosa in *Eimeria* and *E. coli* challenged broilers supplemented with amino acids. **Poultry science** 95 (5), 1056-1065, 2016.

HMANI H., DAOUD L., JLIDI M., JALLELI K., ALI M.B., BRAHIM A.H., BARGUI M., DAMMAK A. A *Bacillus subtilis* strain as probiotic in poultry: selection based on in vitro functional properties and enzymatic potentialities. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 44: 8, p1157–1166, 2017.

HE X., LU Z., MA B., ZHANG L., LI J., JIANG Y., LI J., JIANG Y., ZHOU G.H., GAO F. Effects of chronic heat exposure on growth performance, intestinal epithelial histology, appetite-related hormones and genes expression in broilers. **Journal Science Food and Agriculture**;98(12):4471-4478, 2018.

HOFACRE C.L., REYNOLDS D., MATHIS G., BRETTS L., OLLIS N., SMITH J. Effect of a Competitive Exclusion Culture in a Necrotic Enteritis Challenge Model in Broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 2, p. 350–355, 2019.

KEERQIN C., MORGAN N., WU S.B., SWICK R.A., CHOCT M. Dietary inclusion of arabinoxylo- oligosaccharides in response to broilers challenged with subclinical necrotic enteritis. **British Poultry Science** 58(4):418–424, 2017.

KISIELINSKI K., WILLIS S., PRESCHER A. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. Med.**, v.2, p.131-135, 2002.

LEITE P.R.S.C., OLIVEIRA H.B., SOUZA V.B.L., ROCHA F.O., OLIVEIRA T.H. Probiotic and synbiotic in broiler diet: performance and Enterobacteriaceae. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.72, n.6, p.2365-2372, 2020

LEKSHMI M., AMMINI P., KUMAR S., VARELA M.F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. **Microorganisms** 5(1):11, 2017.

MA Y., WANG W., ZHANG H., WANG J., ZHANG W., GAO J., WU S., QI G. Supplemental Bacillus subtilis DSM 32315 manipulates intestinal structure and microbial composition in broiler chickens. **Scientific Reports** 8(1):15358, 2018.

MAIORKA A., SANTIN E., DAHLKE F., BOLELI I.C., FURLAN R.L., MACARI M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, n. 4, p. 483-92, 2003.

MAIORKA A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2004, Chapecó. **Anais**, p. 119-129.

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

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**, v. 68, n. 9, p. 2997-3010, 1990.

MORALES-BARRERA E., CALHOUN N., LOBATO-TAPIA J.L., LUCCA V., PRADO-REBOLLEDO O. Risks involved in the use of enrofloxacin for Salmonella enteritidis or Salmonella heidelberg in commercial **Frontiers in Veterinary Science**. 3. 2016.

NAKPHAICHIT M., THANOMWONGWATTANA S., PHRAEPHAISARN C., SAKAMOTO N., KEAWSOMPONG S., NAKAYAMA J., NITISINPRASERT S. The effect of including Lactobacillus reuteri KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. **Poultry Science**. 90(12):2753-65, 2011.

OHLAND C.L., MACNAUGHTON W.K. Probiotic bacteria and intestinal epithelial

barrier function. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 298, n. 6, p. G807- G19, 2010.

PAIVA D., MCELROY A. Necrotic enteritis: Applications for the poultry industry. **Journal of Applied Poultry Research**. 2014, 23, 557–566.

POURABEDIN M., GUAN L., ZHAO X. Xylo-oligosaccharides and virginiamycin differentially modulate gut microbial composition in chickens. **Microbiome** 3(1):15, 2015.

RABENHOSRT S.H. Detecção imunohistoquímica do PCNA como marcador da atividade proliferativa em linfomas não -hogkin: estudo de correlação com as classificações morfológicas. **Botucatu, SP; s.n; 1993. 100 p. ilus, tab.**, 1993.

RENA C.I., SILVA A.L., BARRA A.A., FURTADO M.C.V., RENA R.L. Alterações morfológicas da musculatura dos músculos longitudinal e circular de ratos submetidos à criação de piloros no intestino delgado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. V. 34, n.1, p 41-47, 2007.

RODRIGUES F.A.P., MEDEIROS P.H.Q.S., PRATA M.M.G., LIMA A.A.M. Fisiologia da Barreira Epitelial Intestinal, p. 441 -478. In: **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. São Paulo: Blucher, 2016.

SAS INSTITUTE INC. System for Microsoft Windows, **Release 9.2**, Cary, NC, USA, 2002-2008.

UNI Z., PLATIN R., SKLAN D. Cell proliferation in Chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. **Journal of Comparative Physiology B**. 168:241–247, 1998.

WANG H., NI X., QING X., LIU L., LAI J., KHALIQUE A., LI G., PAN K., JING B., ZENG D. Probiotic enhanced intestinal immunity in broilers against subclinical necrotic enteritis. **Frontiers in Immunology** 8:1592, 2017.

WHELAN R.A., DORANALLI K., RINTTILÄ T., VIENOLA K., JURGENS G., APAJALAHTI J. The impact of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the pathology, performance, and intestinal microbiome of broiler chickens in a necrotic enteritis challenge. **Poultry Science** 98(9):3450–3463, 2018.