



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**EFEITO DE FRAÇÕES RICAS EM MANANAS E MISTURA DE
BUTIRATO DE SÓDIO E PROTEINATO DE ZINCO SOBRE O
DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E EXPRESSÃO
GÊNICA EM FRANGOS DE CORTE**

MARIA ANGELA DOS SANTOS SILVA



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**



MARIA ANGELA DOS SANTOS SILVA

**EFEITO DE FRAÇÕES RICAS EM MANANAS E MISTURA DE BUTIRATO DE
SÓDIO E PROTEINATO DE ZINCO SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA
INTESTINAL E EXPRESSÃO GÊNICA EM FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Sergipe como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia

Orientador:

Prof. Dr. Claudson Oliveira Brito

SÃO CRISTÓVÃO - SE

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S586 Silva, Maria Angela dos Santos.
e Efeito de frações ricas em mananas e mistura de butirato de sódio e proteinato de zinco sobre o desempenho, morfometria intestinal e expressão gênica em frangos de corte / Maria Angela dos Santos Silva ; orientador Claudson Oliveira Brito . – São Cristóvão, SE, 2021. 38 f.: il.

Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 2021.

1. Aves. 2. Frango de corte. 3. Prebióticos. 4. Antibióticos na nutrição animal. I. Brito, Claudson Oliveira, orient. II. Título.

CDU 636.084

MARIA ANGELA DOS SANTOS SILVA

**EFEITO DE FRAÇÕES RICAS EM MANANAS E MISTURA DE
BUTIRATO DE SÓDIO E PROTEINATO DE ZINCO SOBRE O
DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E EXPRESSÃO
GÊNICA EM FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Sergipe como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia.

APROVADA em 29 de outubro de 2021.

**LUIZ FERNANDO
COSTA E
SILVA:07979743695**

Assinado de forma digital por LUIZ
FERNANDO COSTA E
SILVA:07979743695
Dados: 2021.12.13 08:11:55 -03'00'

Dr. Luiz Fernando Costa e Silva (Alltech Brasil)

Documento assinado digitalmente
 Valdir Ribeiro Junior
Data: 13/12/2021 08:31:33-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Valdir Ribeiro Júnior (UFS - Campus Sertão)

Documento assinado digitalmente
 Claudson Oliveira Brito
Data: 13/12/2021 09:01:22-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Claudson Oliveira Brito (UFS - Campus São Cristóvão)

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2021

Dedico este trabalho a minha mãe, por ser tudo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Margarida e Vicente, por todo amor, compreensão e por terem acreditado no meu potencial. Devo tudo que sou a eles.

As minhas irmãs, Ariana e Adriana, por todo carinho e apoio dado nos momentos difíceis.

Aos meus sobrinhos, Lucas, Davi e Valentim, por todo amor e alegria dada nos momentos de tristeza.

A minha amiga Erica, por todo amor, paciência e por ter aguentado minhas reclamações nos momentos de desespero.

As minhas colegas de mestrado, Rayanna, Tamiris, Ladijane, Alany e Izabelle, por toda amizade, carinho e ajuda dada nesses últimos dois anos.

Ao estagiário Dangles, pelos momentos de descontração.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Claudson Brito, por tudo que me ensinou nessa jornada, pela paciência e por toda ajuda.

Ao grupo NEAAVI, pela ajuda na elaboração do meu experimento.

A técnica do Departamento de Morfologia, Denise, pela ajuda na confecção das lâminas histológicas.

A doutoranda Thaís e a Prof^a Dra. Camilla Mendonça, pela ajuda na realização da análise de expressão gênica.

A empresa Asa Branca Alimentos, pelos animais e espaço cedido para realização desta pesquisa.

A empresa Alltech, pelos produtos cedidos e pela confiança depositada.

Ao Programa de Pós-graduação Integrado em Zootecnia – PPIZ.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO GERAL	iii
INTRODUÇÃO GERAL.....	v
REFERÊNCIAS	vii
Resumo	2
Introdução	3
Material e métodos	5
Animais, delineamento experimental e dietas	5
Contagem de oocistos de <i>C. perfringens</i> e escore de lesão intestinal	7
Morfometria intestinal.....	7
Análises estatísticas	10
Resultados	10
Desempenho	10
Contagem de oocistos de <i>C. perfringens</i> e Escore de lesão intestinal	12
Morfometria intestinal.....	13
Expressão gênica.....	14
Discussão	15
Conclusão.....	19
Referências.....	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rações utilizadas durante o período experimental.....	06
Tabela 2. Sequência de primers utilizados na reação de Qrt-PCR.....	10
Tabela 3. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas experimentais durante 42 dias.....	11
Tabela 4. Contagem de oocistos de <i>Clostridium perfringens</i> presentes na cama do aviário em diferentes períodos.....	12
Tabela 6. Morfometria intestinal de frangos de corte alimentados com dietas experimentais aos 42 dias de idade.....	14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escore de lesão intestinal em frangos de corte aos 42 dias de idade.....	13
Figura 2. Expressão relativa dos genes do sistema imune receptor Toll-Like 2 (TRL2), Interleucina 1 β (IL-1 β) e Interleucina 2 (IL-2) do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade, submetidos a dietas com prebiótico e/ou pós-biótico.....	15
Figura 3. Expressão relativa dos genes de absorção de nutrientes transportador de glicose transportador de glicose 2 (GLUT2), transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1) e transportador de aminoácidos neutros e catiônicos (y+LAT2) do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade, submetidos a dietas com prebiótico e/ou pós-biótico.....	15

RESUMO GERAL

Prebióticos e pós-bióticos são compostos adicionados à dieta animal com o intuito de substituir os antibióticos, visando manter bons resultados de desempenho e melhorar a saúde intestinal. Dessa forma, objetivou-se com o estudo avaliar os efeitos da adição de um prebiótico e um pós-biótico (Actigen® e Viligen™, respectivamente) sobre o desempenho, morfometria intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes e a resposta imunitária em frangos de corte. Um total de 1400 pintos de corte (Cobb 500) de um dia de idade foram aleatoriamente distribuídos em cinco tratamentos, com oito repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos avaliados foram: Controle negativo (CN; sem antibiótico); Controle positivo (CN + antibiótico); CN + Prebiótico (0,4 kg/ton); CN + Pós-biótico (1,0 kg/ton); Prebiótico (0,4 kg/ton). O consumo de ração só foi influenciado pelos tratamentos na idade de 1 a 21 dias ($p=0,06$), onde a utilização do antibiótico resultou em maior consumo de ração. As dietas que continham prebiótico e pós-biótico isoladamente apresentaram maior ganho de peso na fase de 22 a 42 dias. A conversão alimentar aos 42 dias foi melhor para as aves que receberam os aditivos de forma isolada. A contagem de oocistos de *Clostridium perfringens* na cama do aviário para os tratamentos com a adição de aditivos declinou à medida que houve um avanço na idade das aves. A utilização dos aditivos proporcionou aumento nas vilosidades duodenais, quando administrados de forma isolada, e nas vilosidades ileais, quando administrados de forma combinada, não havendo efeito dos tratamentos nas vilosidades do jejuno ($p=0,496$). A profundidade da cripta e a relação vilo:cripta duodenal foram melhores para os dois tipos de aditivos. O prebiótico proporcionou menor profundidade da cripta e melhor relação vilo:cripta no jejuno e íleo. Não houve efeito dos tratamentos para a expressão dos genes receptor Toll-Like 2 (*ILR2*), Interleucina 1 beta (*IL1-β*) e Interleucina 2 (*IL2*), assim como para a expressão do transportador de glicose 2 (*GLUT2*). A expressão do gene transportador de glicose dependente de sódio (*SGLT1*) foi maior no controle negativo. A utilização dos prebióticos e

pós-bióticos, de forma isolada ou combinada, resultou na maior expressão do gene transportador de aminoácidos neutros e catiônicos (y+LAT2). Portanto, o uso do prebiótico e do pós-biótico, de forma isolada, promovem benefícios no desempenho animal, morfologia intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes.

Palavras-chave: Antibióticos; genes; resposta imune.

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de antibióticos como promotores de crescimento na avicultura industrial contribuiu para o avanço produtivo observado neste setor nas últimas décadas. Entretanto, existe uma preocupação quanto ao seu uso na nutrição animal estar relacionado à resistência bacteriana apresentada contra alguns antibióticos utilizados na medicina humana. Acredita-se que as bactérias resistentes poderiam contaminar os seres humanos tanto pelo contato direto com animais quanto pela ingestão de alimentos contaminados (NESSE et al. 2019). Devido a esse cenário, a União Europeia, um dos maiores importadores de carne de frango, decidiu eliminar gradualmente e, finalmente, proibir, no ano de 2006 a comercialização e o uso de antibióticos como promotores de crescimento em dietas para animais (CASTANON, 2007).

Diversos aditivos vêm sendo estudados como alternativas aos antibióticos, tais como os prebióticos, probióticos, simbióticos e pós-bióticos. Gilbson et al. (2017) definiram os prebióticos como substratos utilizados seletivamente por microrganismos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Entre as substâncias frequentemente estudadas na família dos prebióticos estão os constituintes da parede celular de leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae*, que é constituída basicamente por β -glucana (35-55%), mananoproteína (30-50%) e quitina (2-6%) (KLIS et al. 2006). Melhorias na função intestinal, ganho de peso e conversão alimentar foram observadas com o uso de prebióticos derivados da parede de leveduras nas dietas de frangos de corte (AL-KHALAIFA et al. 2019), assim como a diminuição de patógenos como o *Clostridium perfringens*, bactéria responsável por perdas significativas nos aviários (LI et al. 2017).

Os constituintes da parede celular de leveduras também podem influenciar na modulação do sistema imunológico devido à sua estrutura possuir padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que estimulam, por meio de receptores presentes nas células de defesa do organismo, a produção de citocinas pró-inflamatórias, influenciando diretamente na resposta imunitária das aves (PAUL et al. 2013; BROOM e KOGUT, 2018).

Atualmente, foi criado o termo “pós-biótico” para denominar os produtos (ou subprodutos) do metabolismo microbiano, seja através da sua atividade fermentativa ou após sua morte (AGUILAR-TOALÁ, 2018). Entre os principais produtos do metabolismo microbiano estão os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o ácido butírico, que representa uma importante fonte de energia para células que revestem as vilosidades intestinais (ELGEDDAWY et al. 2020). Teoricamente, o estímulo ao desenvolvimento das vilosidades intestinais acarreta em maior área de superfície para absorção de nutrientes, fator este que

influencia diretamente no aumento da absorção de nutrientes, resultando em melhorias no ganho de peso e conversão alimentar. Além dos produtos da fermentação microbiana existem também os substratos presentes na biomassa microbiana, como o proteinato de zinco, que desempenha forte ação antimicrobiana, ajudando a manter a integridade intestinal (BORTOLUZZI et al. 2019). Entretanto, existem poucas informações na literatura a respeito dos produtos e subprodutos do metabolismo microbiano na nutrição animal.

Dessa forma, objetivou-se com o estudo avaliar a suplementação de prebióticos sobre o desempenho, morfometria intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes e a resposta imune em frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-TOALÁ, J. E.; GARCIA-VARELA, R.; GARCIA, H. S.; MATA-HARO, V.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CORDOBA, B.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 105-114, 2018.
- AL-KHALAIFA, H. AL-NASSER, A.; AL-SURAYEE, T.; AL-KANDARI, S.; AL-ENZI, N.; AL-SHARRAH, T. Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens. **Poultry science**, v. 98, n. 10, p. 4465-4479, 2019.
- BORTOLUZZI, C.; LUMPKINS, B.; MATHIS, G.; FRANÇA, M.; KING, W. D.; GRAUGNARD, D. E. Zinc source modulates intestinal inflammation and intestinal integrity of broiler chickens challenged with coccidia and *Clostridium perfringens*. **Poultry science**, v. 98, n. 5, p. 2211-2219, 2019.
- BROOM, L. J.; KOGUT, M. H. The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 204, p. 44-51, 2018.
- CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. **Poultry science**, v. 86, n. 11, p. 2466-2471, 2007.
- ELGEDDAWY, S. A.; SHAHEEN, H. M.; EL-SAYED, Y. S.; ABD ELAZIZ, M.; DARWISH, A.; SAMAK, D.; ELNESR, S. S. Effects of the dietary inclusion of a probiotic or prebiotic on florfenicol pharmacokinetic profile in broiler chicken. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 104, n. 2, p. 549-557, 2020.
- GILBSON, G. R.; HUTRINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESTCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K.; REID, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017.
- KLIS, F. M.; BOORSMA, A.; DE GROOT, P. WJ. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 23, n. 3, p. 185-202, 2006.
- LI, Z.; WANG, W.; LY, Z.; LIU, D.; GUO, Y. *Bacillus subtilis* and yeast cell wall improve the intestinal health of broilers challenged by *Clostridium perfringens*. **British poultry science**, v. 58, n. 6, p. 635-643, 2017
- NESSE, L. L.; BAKKE, A. M.; EGGEN, T.; HOEL, K.; KALDHUSDAL, M.; RINGO, E.; KROGDAHL, A. The Risk of Development of Antimicrobial Resistance with the Use of Coccidiostats in Poultry Diets. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, p. 40-43, 2019.
- PAUL, M. S.; BRISBIN, J. T.; ABDUL-CAREEM, M. F.; SHARIF, S. Immunostimulatory properties of Toll-like receptor ligands in chickens. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 152, n. 3-4, p. 191-199, 2013.

Artigo redigido sob as diretrizes do periódico Livestock Science

**EFEITO DE FRAÇÕES RICAS EM MANANAS E MISTURA DE BUTIRATO DE
SÓDIO E PROTEINATO DE ZINCO SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA
INTESTINAL E EXPRESSÃO GÊNICA EM FRANGOS DE CORTE**

Efeito de frações ricas em mananas e mistura de butirato de sódio e proteinato de zinco sobre o desempenho, morfometria intestinal e expressão gênica em frangos de corte

M. A. S. Silva^a, C. O. Brito^a

^aDepartamento de Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe, Avenida Marechal Rondon, S/N, Jardim Rosa Elze, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brasil

Resumo

Objetivou-se com o estudo avaliar os efeitos da adição combinada ou não de um prebiótico (Actigen[®]) e pós-biótico (ViligenTM) sobre o desempenho, morfometria intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes e a resposta imunitária em frangos de corte. 1400 pintos de corte (Cobb 500) de um dia de idade foram aleatoriamente distribuídos em cinco tratamentos, com oito repetições e 35 aves por unidade experimental. Os tratamentos avaliados foram: Controle negativo (CN; sem antibiótico); Controle positivo (CN + antibiótico); CN + Prebiótico (0,4 kg/ton); CN + Pós-biótico (1,0 kg/ton); Prebiótico (0,4 kg/ton). O consumo de ração só foi influenciado pelos tratamentos na idade de 1 a 21 dias ($p=0,006$), onde o tratamento contendo antibiótico resultou em maior consumo de ração. A utilização isolada do pós-biótico e do prebiótico resultou em maior ganho de peso na idade de 22 a 42 dias. A conversão alimentar aos 42 dias foi melhor para as aves que receberam pós-biótico e o prebiótico de forma isolada. A contagem de oocistos de *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) na cama do aviário declinou à medida que houve um avanço na idade das aves com a utilização do pós-biótico e do prebiótico, juntos ou individuais. A utilização dos aditivos proporcionou aumento nas vilosidades duodenais quando administrados de forma isolada e nas vilosidades ileais, quando administrados de forma combinada, não havendo efeito

nas vilosidades do jejuno ($p=0,496$). A profundidade da cripta e a relação vilo:cripta duodenal foram melhores para os dois tipos de prebióticos. O Prebiótico proporcionou menor profundidade da cripta e melhor relação vilo:cripta no jejuno e íleo. Houve diferença significativa entre os tratamentos na expressão do gene transportador de glicose dependente de sódio (*SGLT1*), sendo mais expressivo no controle negativo. Houve uma maior expressão do gene transportador de aminoácidos neutros e catiônicos (γ -LAT-2) com a adição isolada ou combinada do prebiótico e do pós-biótico. A utilização dos aditivos naturais, de forma isolada, promove benefícios no desempenho de crescimento, morfologia intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes.

Palavras-chave: Antibióticos; promotores de crescimento; genes; resposta imune

Introdução

O uso de antibióticos como promotores de crescimento na dieta animal foi proibido na União Europeia em 2006 (Castanon, 2007) e, posteriormente, limitado nos Estados Unidos (Departamento de Saúde e Serviços Humanos, 2015) devido ao seu uso estar associado à resistência bacteriana a medicamentos, podendo ser passada para humanos (Sweeney et al., 2018; Tania et al., 2018). Dessa forma, se faz necessário o desenvolvimento de produtos alternativos ao uso de antibióticos na dieta animal, visando a melhoria ou manutenção do desempenho das aves proporcionado pela utilização de antibióticos, ação atribuída quando estes fazem o controle de microrganismos patogênicos.

Dentre as possibilidades, destacam-se os prebióticos, que são definidos como substratos utilizados seletivamente por microrganismos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Gilbson et al., 2017). Entre uma alta variedade de compostos que possuem

ação prebiótica, está a parede celular de leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae*, que é constituída principalmente por β -glucana (35-55%), mananoproteína (30-50%) e quitina (2-6%) (Klis et al. 2006). Pesquisas demonstraram que a suplementação com esses componentes proporcionou aumento do ganho de peso, melhorias na morfometria intestinal e redução de patógenos, como o *Clostridium perfringens* (Kim et al., 2011; Allaart et al., 2013; Hajiaghapour e Rezaeipour, 2018).

Além disso, derivados da parede celular de levedura possuem a capacidade de modular o sistema imunológico por possuírem em sua estrutura padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que estimulam, por meio de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), a produção de citocinas pró-inflamatórias, aumentando assim a resposta imune (Paul et al. 2013; Broom e Kogut, 2018).

Recentemente foi criado o termo “pós-biótico” para designar fatores solúveis (produtos ou subprodutos) secretados por bactérias vivas ou liberados após a lise bacteriana (Aguilar-Toalá, 2018), os quais fornecem benefícios ao hospedeiro através da bioatividade adicional. O butirato de sódio, produto natural do metabolismo microbiano, representa uma das principais fontes para o desenvolvimento das células epiteliais que revestem o intestino, estimulando assim o desenvolvimento das vilosidades intestinais (Ahsan et al. 2016). Wu et al. (2018) relataram que a adição de ácido butírico na dieta das aves proporcionou melhorias na saúde intestinal, refletindo diretamente no desempenho dos animais. Já o proteinato de zinco, constituinte da biomassa bacteriana, desempenha um importante papel no controle dos danos causados por patógenos como o *Clostridium perfringens*, ajudando a manter a integridade intestinal e a saúde geral das aves (Bortoluzzi et al. (2019). Entretanto, são escassas as informações na literatura a respeito dos benefícios ocasionados pelos pós-bióticos na nutrição animal.

Portanto, objetivou-se com o estudo avaliar a suplementação de prebióticos combinados ou não sobre o desempenho animal, morfometria intestinal e expressão de genes associados ao transporte de nutrientes e a resposta imune em frangos de corte.

Material e métodos

Animais, delineamento experimental e dietas

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Produção (CEPAP) da Universidade Federal de Sergipe, Brasil, sob protocolo de nº 21/2019.

O experimento foi realizado nas instalações da empresa Asa Branca Alimentos, localizada no município de São Cristóvão - SE, Brasil. Todas as técnicas de criação adotadas seguiram o manual de criação da linhagem utilizada (Cobb-Vantress, 2008). Um total de 1400 pintos de corte Cobb, machos e fêmeas, com um dia de idade, foram alojados em boxes com pisos de concreto e cama de maravalha reutilizada por quatro ciclos de produção. Cada box com 4m² representou uma unidade experimental.

As aves foram distribuídas aleatoriamente em cinco tratamentos com oito repetições de 35 aves (20 fêmeas e 15 machos) por unidade experimental. Os tratamentos adotados foram dietas Controle negativo (CN), sem antibiótico; Controle positivo, com uso de antibiótico (CP); CN + ViligenTM (1,0 kg/ton); CN + Actigen[®] (0,4 kg/ton) e CN + ViligenTM (1,0 kg/ton) + Actigen[®] (0,4 kg/ton). O ViligenTM é composto de butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco, enquanto que o Actigen[®] é composto por frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, ambos desenvolvidos pela Alltech Inc., Nicholasville, Kentucky, USA. A utilização dos antibióticos seguiu o protocolo de uso de antibióticos da empresa, que usa o Bacitracina de Metileno Disalicilato (55 ppm) na fase de 1 a 21 dias de idade e o Virginiamicina (15 ppm) na fase de 1 a 42 dias.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja para atender as exigências nutricionais das aves durante todo o período experimental de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017), sendo preparadas dietas para as idades pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) (Tabela 1). Tanto os antibióticos como os aditivos naturais utilizados foram adicionados às dietas basais em substituição parcial ao amido de milho.

Diariamente a temperatura e a umidade relativas do ar foram aferidas por meio de termômetros posicionados em diferentes pontos do galpão (frente, meio e final) e na altura das aves. As temperaturas médias obtidas durante o período experimental foram a máxima de 31°C e a mínima de 24°C, para manter o conforto térmico das aves, quando necessário ventiladores eram acionados.

Tabela 1. Dietas do controle negativo para as idades experimentais

Ingredientes	Idades, dias			
	1 a 7	8 a 21	22 a 35	36 a 42
Milho	57,28	59,53	67,21	69,98
Farelo de soja (45,5%)	37,83	31,11	25,11	25,84
Soja integral extrusada	---	5,77	4,71	---
Farinha de carne e ossos 42%	1,55	0,91	0,28	---
Gordura de aves	0,41	---	---	1,69
Sal comum	0,57	0,54	0,52	0,47
Calcário calcítico	1,18	1,17	1,15	1,14
Bicarbonato de sódio	0,24	0,18	0,18	0,18
Biolys® 55	0,19	0,14	0,25	0,15
DL-Metionina	0,32	0,27	0,24	0,20
Treonina	0,04	0,01	0,01	0,01
Allzyme® SSF	0,05	0,05	0,05	0,05
Anticoccidiano ¹	0,05	0,05	0,03	0,03
Premix vitamínico ²	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix mineral ³	0,10	0,08	0,07	0,06
Amido ⁴	0,14	0,14	0,14	0,14
<i>Composição calculada %</i>				
Energia metabolizável (kcal/kg)	3000	3080	3150	3220
Proteína bruta	24,00	22,80	20,00	18,60
Extrato etéreo	2,85	3,55	3,57	4,37
Fibra bruta	3,02	3,44	3,76	3,65
Cálcio	0,970	0,880	0,770	0,719
Fósforo total	0,541	0,488	0,405	0,369
Fósforo disponível	0,435	0,393	0,344	0,321
Potássio	0,757	0,622	0,502	0,517
Sódio	0,230	0,220	0,210	0,190
Arginina digestível	1,544	1,465	1,260	1,170

Isoleucina digestível	0,980	0,933	0,813	0,762
Lisina digestível	1,330	1,230	1,120	1,000
Metionina digestível	0,662	0,598	0,538	0,480
Met+Cis digestível	0,987	0,910	0,820	0,750
Treonina digestível	0,880	0,810	0,720	0,671
Triptofano digestível	0,277	0,263	0,226	0,211
Leucina digestível	1,806	1,739	1,570	1,495
Valina digestível	1,019	0,976	0,858	0,805

¹Anticoccidiano: Semduramicina + Nicarbazina nas idades de 1 a 21 dias e Diclazuril 0,5% de 22 a 42 dias

²Premix vitamínico: Ácido fólico 800mg, ácido pantotênico 12.000 mg, selenito de sódio 250 mg, vitamina A 9.000 UI, vitamina B1 1500 mg, vitamina B12 mg, vitamina B2 6.000 mg, vitamina B6 3.000 mg, vitamina D3 2.500 UI, vitamina E 20.000 UI, ácido nicotínico 25.000 mg, vitamina K3 2500 mg, biotina 60 mg, veículo q.s.p. 1000g.

³Premix mineral: Sulfato de ferro 100 mg, sulfato de cobre 20 mg, óxido de zinco 100 mg, óxido de manganês 160 mg, cobalto 2 mg, iodato de cálcio 2 mg, veículo q.s.p. v 1000g.

⁴ Nos tratamentos medicados foi utilizado 55 ppm de Bacitracina de Metileno Disalicilato na idade de 1 a 21 dias e 15 ppm de Virginiamicina de 22 a 42 dias. Nos demais tratamentos o prebiótico (Actigen[®]) e o pós-biótico (ViligenTM). Ambos aditivos foram usados em substituição parcial ao amido.

Contagem de oocistos de C. perfringens e escore de lesão intestinal

Aos 7, 21 e 42 dias, amostras da cama do aviário foram coletadas, armazenadas a -18°C e posteriormente enviadas ao laboratório para contagem de oocistos de *C. perfringens*. As contagens foram realizadas de acordo com a ISO (International Organization for Standardization) – ISO 15213 (2003), ISO 7937 (2004), ISO 6887-1 (2017) e ISO 7218-1 (2013).

Para avaliação de lesões intestinais, oito aves por tratamento foram selecionadas aos 42 dias de idade, abatidas e o trato digestório que foi cuidadosamente removido e aberto por incisão longitudinal. As lesões da enterite necrótica foram pontuadas de 0 a 4, seguindo o procedimento de Prescott et al. (1978). As lesões foram classificadas da seguinte forma: 0, ausência de lesões macroscópicas; 1, parede intestinal fina ou friável; 2, presença de necrose ou ulcerações focais; 3, lesões maiores de necrose; e 4, necrose severa e extensa, típica de quadros clínicos.

Morfometria intestinal

Aos 42 dias, seis aves por tratamentos foram abatidas e amostras do duodeno, jejuno e íleo foram coletadas, lavadas com cloreto de sódio a 0,9%, para remoção da

ingesta armazenada e fixadas em formalina tamponada a 10% por 24 horas. Após esse período, a solução de formalina foi substituída por álcool 70%, sendo mantidas desta forma até o momento da preparação das lâminas.

As amostras intestinais foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Seções transversais de cinco μm de espessura foram cortadas e a cada 12 seções foram coletadas. Posteriormente, os cortes histológicos foram corados com Hematoxilina-Eosina (HE). As imagens histológicas foram capturadas utilizando o microscópio Óptico P1 Olympus BX 50 acoplado a uma câmera Olympus PMC 35 B, na objetiva 4 $\times$. As mensurações morfométricas do duodeno, jejuno e íleo foram realizadas por meio do sistema de análise de imagem computadorizada Image Pro Plus versão 4.0 (Média Cibertecnicos). De cada uma das seções intestinais, foram medidos 10 vilos intactos. A altura das vilosidades (μm) foi medida da região apical das vilosidades até a junção vilo/cripta, e a profundidade da cripta foi definida como a profundidade da invaginação entre duas vilosidades, de acordo com o relatado por Allame (2019). A partir disto foi calculada a relação entre a altura das vilosidades e a profundidade da cripta.

As características morfométricas são frequentemente usadas como indicadores do trato gastrointestinal saudável. Vilosidades mais longas proporcionam uma maior área de absorção de nutrientes, enquanto que o aumento na profundidade da cripta indica uma maior demanda por renovação do tecido, o que aumenta as necessidades de manutenção de energia e proteína, refletindo negativamente na eficiência alimentar (Awad et al., 2021), de modo que aves com criptas mais curtas apresentam melhor desempenho de crescimento (Wang et al., 2015). Dessa forma, a relação ideal entre a altura das vilosidades e criptas intestinais ocorre quando as vilosidades se apresentam altas e as criptas curtas, pois quanto maior for a relação altura da vilosidade:profundidade da cripta,

melhor será a absorção de nutrientes e menores serão as perdas energéticas devido a renovação celular.

Expressão gênica

As análises de expressão gênica foram realizadas a partir de amostras jejunais aos 42 dias. Cinco aves por tratamento tiveram 2 cm do jejuno médio coletados, congeladas em nitrogênio líquido, e posteriormente mantidas a -80°C até o momento da análise. O RNA total foi extraído usando o reagente Trizol™ (Invitrogen TM, Carlsbad CA, USA). As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad CA, EUA), para evitar uma possível contaminação das amostras com DNA. Para a síntese de DNA complementar (cDNA), foi usado o kit GoScript Reverse Transcription System (Promega, Madison, Wi, EUA), utilizando 4µL de RNA tratado com DNase, conforme as instruções do fabricante.

Para as reações em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), foram utilizados 5 µL de cDNA diluído a 40 ng, 0,5 µL de cada primer a 10 µM (concentração final: 200 nM), 12,5 µL de Sybr® Green PCR Master Mix e água na quantidade suficiente para completar o volume final de cada reação de 25 µL. As reações de qPCR foram realizadas no termociclador (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System) e os parâmetros do ciclo térmico para todos os genes foram: 95°C durante 10 min, seguido de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento/extensão a 60°C durante 1 min. As curvas de dissociação foram realizadas para garantir a especificidade das análises.

Os primers usados nas reações para a amplificação dos genes receptor toll-like 2 (*TLR2*), Interleucina 1 beta (*IL-1β*) e Interleucina 2 (*IL-2*), transportador de glicose 2 (*GLUT 2*), transportador de glicose 1 Na⁺/dependente (*SGLT1*), transportador de aminoácidos neutros e catiônicos (γ -LAT2) foram desenhados com base nas sequências de genes depositadas no National Center for Biotechnology Information (NCBI)

www.ncbi.nlm.nih.gov (Tabela 2). O gene β -actina foi utilizado como controle endógeno (Tabela 2). Todas as análises foram realizadas em duplicatas.

Tabela 2. Sequência de primers utilizados na reação de qRT-PCR

Genes	Nº Acesso	Sequência do gene (5'→ 3')	Referência
<i>TLR2</i> ¹	NM_204278.1	F: ACTGCCTGCAACGGTCAT R: CATCAGCTTCATTGTTGGTTTCTGT	Vesco et al. (2020)
<i>IL1β</i>	NM_204524.1	F: GTCAACATCGCCACCTACAA R: CGGTACATACGAGATGGAAACC	
<i>IL2</i>	GU119890.1	F: CCTCAAGAGTCTTACGGGTCTA R: AGTTGGTCAGTTCATGGAGAAA	
<i>GLUT2</i>	BI392505	F: CACACTATGGGCGCATGCT R: ATTGTCCCTGGAGGTGTTGGTG	Gilbert et al. (2007)
<i>SGLT1</i>	NM_207178	F: GCCATGGCCAGGGCTTA R: CAATAACCTGATCTGTGCACCAGTA	Gilbert et al. (2007)
<i>y+LAT2</i>	XM_418326.6	F: CAGAAAACCTCAGAGCTCCCTTT R: TGAGTACAGAGCCAGCGCAAT	Gilbert et al. (2007)
β -Actina	L08165.1	F: GCCAACAGAGAGAAGATGAC R: CACCAGAGTCCATCACAATAC	Vesco et al. (2020)

¹ TLR2 = Receptor Toll-like 2; IL-1 β = Interleucina 1 beta; IL-2 = Interleucina 2; GLUT2 = Transportador de glicose 2; SGLT1 = Transportador de glicose 1 Na⁺/dependente; y+LAT-2 = Transportador de aminoácidos neutros e catiônicos

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC GLM do pacote estatístico SAS versão 8.2 (SAS, 2001). As médias dos tratamentos foram comparadas utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para os dados da expressão relativa dos genes TLR2, IL1 β , IL2, GLUT2, SGLT1 e Y-LAT2 os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão (EP) e a diferença entre as médias foi estimada usando o teste Dunnett, considerando as diferenças em um nível significativo ($p < 0,05$).

Resultados

Desempenho

Na idade de 1 a 7 dias, foi observado maior ganho de peso e melhor conversão alimentar nas aves que receberam ração com antibiótico, não sendo observado diferença

significativa entre os demais tratamentos (Tabela 3). Da mesma forma, também foi observado maior ganho de peso ($p<0,001$) aos 21 dias com a utilização do antibiótico. Entretanto, diferente do observado na idade de 1 a 7 dias, houve diferença significativa nos tratamentos para o consumo de ração aos 21 dias ($p=0,006$), sendo o tratamento contendo antibiótico o que apresentou maior consumo (1373,1g), em contraste com as aves submetidas ao prebiótico, que apresentaram o menor consumo de ração (1285,2 g). As aves que receberam pós-biótico e prebiótico não diferiram das aves que não receberam nenhum tipo de aditivo. Não foi observado diferença significativa para a conversão alimentar nesta idade ($p=0,204$).

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas experimentais

Itens	Tratamentos	Idades			
		1 – 7	1 – 21	22 – 42	1 – 42
Ganho de peso (g)	Controle (-)	143,5 ^b	888,3 ^b	1642,8 ^b	2535,2 ^b
	Controle (+)	160,6 ^a	942,1 ^a	1673,4 ^{ab}	2617,2
	Prebio	142,2 ^b	892,3 ^b	1773,0 ^a	2669,3
	Pós-bio	146,5 ^b	896,1 ^b	1768,9 ^a	2666,7
	Prebio + Pós-bio	142,2 ^b	894,9 ^b	1741,1 ^{ab}	2636,1
SEM		1,756	7,699	27,323	27,462
P-valor		<0,001	<0,001	0,007	0,017
Consumo de ração (g)	Controle (-)	173,7	1335,0 ^{ab}	3192,9	4536,3
	Controle (+)	178,8	1373,1 ^a	3212,5	4592,2
	Prebio	174,3	1285,2 ^b	3258,0	4542,1
	Pós-bio	178,2	1326,9 ^{ab}	3252,7	4581,0
	Prebio + Pós-bio	177,2	1316,0 ^{ab}	3245,1	4561,1
SEM		1,445	15,266	39,333	48,339
P-valor		0,063	0,006	0,748	0,914
Conversão Alimentar (g/g)	Controle (-)	1,21 ^a	1,50	1,95	1,79 ^a
	Controle (+)	1,12 ^b	1,46	1,92	1,76 ^{ab}
	Prebio	1,23 ^a	1,44	1,84	1,70 ^b
	Pós-bio	1,22 ^a	1,48	1,84	1,72 ^b
	Prebio + Pós-bio	1,25 ^a	1,47	1,87	1,73 ^{ab}
SEM		0,016	7,699	0,028	0,017
P-valor		<0,001	0,204	0,060	0,013

Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio= dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio= dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

^{a,b}Médias em uma mesma coluna com diferentes letras sobrescritas são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey (P<0,05).
SEM = Erro padrão da média

As maiores médias para ganho de peso na idade de 22 a 42 dias foram observadas nos tratamentos contendo prebiótico e pós-biótico isolados, não havendo efeito dos tratamentos para o consumo de ração (p=0,748) e conversão alimentar (p=0,060). Da mesma forma, aos 42 dias de idade, tanto o prebiótico como o pós-biótico proporcionaram os melhores resultados para ganho de peso e conversão alimentar, não sendo observada diferença significativa para o consumo de ração (p=0,914).

Contagem de oocistos de C. perfringens e Escore de lesão intestinal

De acordo com os dados obtidos na coleta aos sete dias, o prebiótico foi o que proporcionou a menor concentração de oocistos de *C. perfringens* na cama do aviário (82 UFC/g), seguido pela utilização do antibiótico (180 UFC/g) (Tabela 4). Em contraste, as maiores concentrações foram observadas nos tratamentos contendo pós-biótico (200.000 UFC/g) e na combinação pós-biótico mais prebiótico (55.000 UFC/g).

Tabela 5. Contagem de oocistos de *C. perfringens* (UFC/g) presentes na cama do aviário

Tratamentos	7 dias	21 dias	42 dias
Controle (-)	820	55	160.000
Controle (+)	180	<10	250
Prebio	82	<10	<10
Pós-bio	200.000	<10	<10
Prebio + Pós-bio	55.000	<10	<10

Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio= dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio= dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

Com relação aos dados da coleta aos 21 dias, foi observado que, com exceção do controle negativo, todos os demais tratamentos apresentaram uma diminuição significativa na concentração de oocistos presentes na cama do aviário, apresentando concentrações menores que 10 UFC/g. Da mesma forma, aos 42 dias, a utilização do pós-

biótico e do prebiótico, de forma isolada ou combinada, resultou em concentrações de oocistos de *C. perfringens* inferiores a 10 UFC/g, sendo estes resultados inferiores ao observado com a utilização de antibiótico ($2,5 \times 10^2$ UFC/g).

Não foram observados efeitos dos tratamentos ($p = 0,099$) em relação a lesões intestinais causadas pela Enterite necrótica neste estudo (Figura 1).

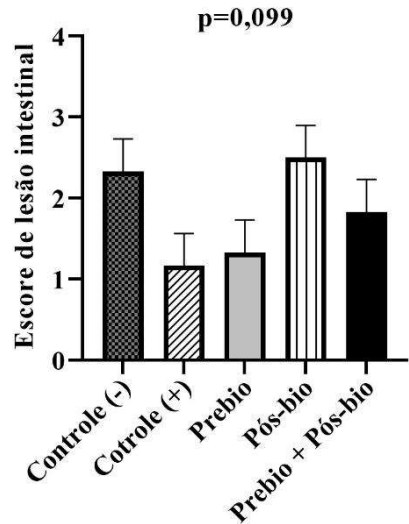


Figura 1. Escore de lesão intestinal de frangos de corte aos 42 dias. Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio = dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio = dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco;

Morfometria intestinal

A utilização do prebiótico e do pós-biótico de forma isolada ou combinada resultou em maior altura do vilo duodenal ($p < 0,0001$), enquanto que a menor profundidade da cripta foi observada com a utilização dos aditivos de forma isolada ($p < 0,0001$), em contraste com o tratamento ausente de aditivos, que apresentou uma maior profundidade da cripta (Tabela 6). A relação vilo:cripta duodenal foi maior ($p < 0,0001$) para os tratamentos com antibiótico e pós-biótico. Não houve efeito dos tratamentos para a altura do vilo no jejuno ($p = 0,496$), diferente da profundidade da cripta ($p < 0,0001$) e relação vilo:cripta ($p < 0,0001$), onde a menor profundidade da cripta e melhor relação vilo:cripta foram encontradas com a utilização do prebiótico ($p < 0,0001$). No íleo, a

combinação do prebiótico e pós-biótico resultou em melhor altura das vilosidades ($p<0,0001$). O prebiótico possibilitou uma menor profundidade da cripta ($p<0,0001$) e melhor relação vilo:cripta ileal ($p<0,0001$).

Tabela 6. Morfometria de frangos de corte alimentados com dietas experimentais aos 42 dias de idade

Tratamentos	Altura do Vilo (μm)	Profundidade da Cripta (μm)	Vilo:Cripta
DUODENO			
Controle (-)	1523,56 ^{ab}	228,77 ^a	6,96 ^c
Controle (+)	1452,97 ^b	165,76 ^d	9,20 ^a
Prebio	1627,65 ^a	189,99 ^{bc}	8,64 ^{ab}
Pós-bio	1632,91 ^a	186,34 ^{cd}	9,13 ^a
Prebio + Pós-bio	1598,59 ^a	210,74 ^{ab}	7,79 ^{bc}
SEM	30,721	5,350	0,275
P-Valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001
JEJUNO			
Controle (-)	1269,50	216,14 ^a	6,13 ^c
Controle (+)	1302,59	187,30 ^b	7,89 ^b
Prebio	1246,75	144,18 ^d	8,86 ^a
Pós-bio	1279,17	165,21 ^c	7,84 ^b
Prebio + Pós-bio	1267,06	161,11 ^c	8,01 ^b
SEM	21,259	4,288	0,212
P-Valor	0,496	<0,0001	<0,0001
ÍLEO			
Controle (-)	869,83 ^b	196,94 ^a	4,65 ^d
Controle (+)	887,64 ^b	171,80 ^b	5,51 ^c
Prebio	906,13 ^b	118,29 ^c	7,96 ^a
Pós-bio	781,55 ^c	158,08 ^b	5,25 ^{cd}
Prebio + Pós-bio	1079,54 ^a	164,07 ^b	6,57 ^b
SEM	22,420	5,232	0,192
P-Valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio= dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio= dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

^{a,b,c,d}Médias em uma mesma coluna com diferentes letras sobrescritas são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ($P<0,05$).

SEM = Erro padrão da média

Expressão gênica

A expressão dos genes TRL2, IL1- β , e IL2, associados à resposta imunológica (Figura 2), e do transportador GLUT2 (Figura 3) não foi influenciada pelos tratamentos. Em contraste, o gene SGLT1 apresentou diferenças na sua expressão em relação aos diferentes tratamentos, sendo mais expressivo no controle negativo. A expressão do gene

y+LAT2 também sofreu efeito dos tratamentos, apresentando uma maior expressão nos tratamentos contendo o prebiótico ou o pós-biótico de forma isolada ou combinada.

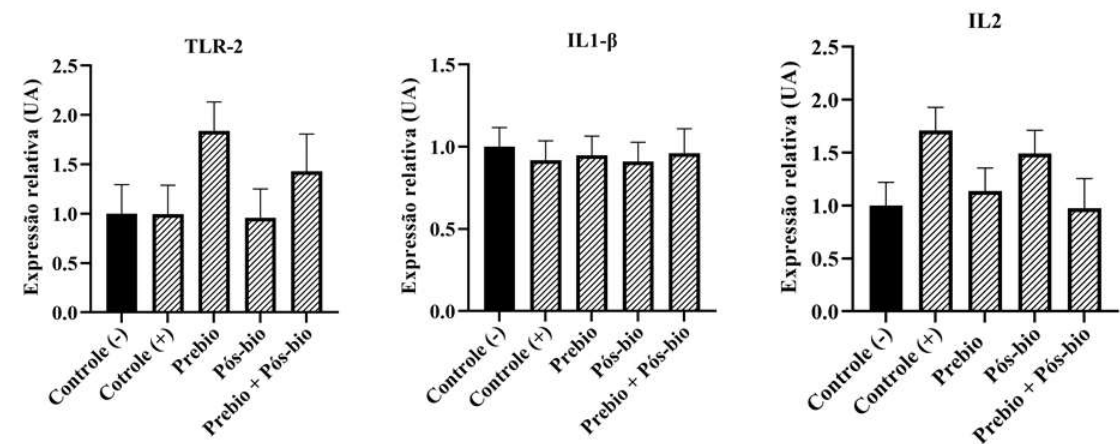


Figura 2. Expressão relativa dos genes do sistema imune, receptor Toll-Like 2 (TLR2, Interleucina 1β (IL-1β) e Interleucina 2 (IL-2) do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade. Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio= dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio= dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

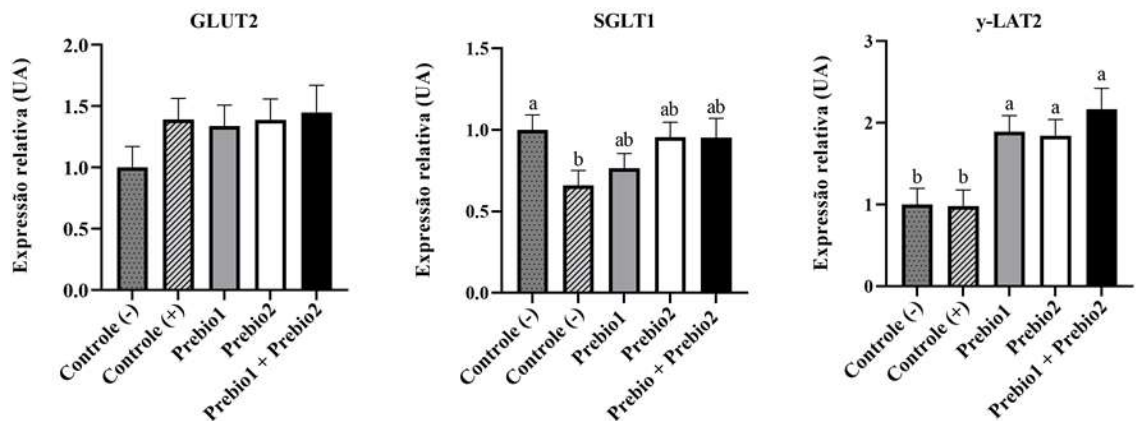


Figura 3. Expressão relativa dos genes de absorção de nutrientes, transportador de glicose 2 (GLUT2), transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1) e transportador de aminoácidos neutros e catiônicos (y+LAT2) do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade. Médias com diferentes letras a, b diferem significativamente ($P < 0,05$). Controle (-) = dieta sem o uso de antibiótico; Controle (+) = dieta com antibiótico; Prebio= dieta com prebiótico composto de frações ativas de mananas derivadas da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*; Pós-bio= dieta com pós-biótico composto por butirato de sódio, levedura hidrolisada e proteinato de zinco.

Discussão

A adição do prebiótico e do pós-biótico nas dietas possibilitaram melhorias significativas no ganho de peso e conversão alimentar. O ganho de peso inferior observado aos 21 dias nas aves dos tratamentos contendo prebiótico e pós-biótico,

isolados ou combinados, pode indicar que tais produtos possuem um modo de ação mais demorado quando comparados ao antibiótico, onde foi possível observar que, aos 42 dias de idade, houve um ganho de peso compensatório nos animais que receberam prebiótico e/ou pós-biótico, demonstrando que a idade de 21 dias não é suficiente para observar os ganhos proporcionados por tais aditivos. Estes resultados podem ser atribuídos a um possível aumento na disponibilidade de nutrientes disponíveis para absorção, resultante de uma maior função intestinal alcançada aos 42 dias de idade (Biswas et al. 2019). Uma vez que animais saudáveis utilizam e convertem de forma mais eficiente os nutrientes presentes na dieta, o efeito positivo proporcionado pela utilização dos aditivos naturais na microbiota intestinal refletiu diretamente no ganho de peso dos animais.

A ausência de efeitos dos tratamentos para o consumo de ração durante as idades de 22 a 42 e aos 42 dias sugere que o crescimento melhorado observado nas aves que receberam dietas suplementadas com prebiótico ou pós-biótico foi, em grande parte, reflexo de uma conversão alimentar mais eficiente. O fornecimento de substratos que estimulam o crescimento de bactérias benéficas ao hospedeiro resulta em uma maior eficiência na digestibilidade e utilização da ração, resultando em maior crescimento e melhor eficiência alimentar (Biswas et al. 2019), como pôde ser observado para a conversão alimentar aos 42 dias de idade com a utilização do prebiótico e do pós-biótico. As melhorias proporcionadas pela combinação dos aditivos naturais não foram significativamente diferentes daquelas feitas pela utilização isolada dos produtos, demonstrando que a suplementação com a combinação não resultou em um efeito sinérgico no desempenho de frangos de corte.

Os resultados observados em relação a contagem de oocistos de *C. perfringens* na cama do aviário evidenciam o efeito positivo proporcionado pela utilização do prebiótico e/ou pós-biótico na redução do número de oocistos na cama do aviário, à medida que

ocorre um avanço na idade das aves. Tal redução influencia diretamente na taxa de contaminação entre os animais, resultando em uma melhor eficiência alimentar do lote e, consequentemente, redução nos custos de produção. Embora não tenha sido observado efeito dos tratamentos para o escore de lesão intestinal é possível observar que tanto a utilização do prebiótico de forma isolada ou combinada com o pós-biótico resultou em valores inferiores aos encontrados no tratamento controle negativo.

Neste estudo, o uso dos aditivos prebiótico e pós-biótico resultou em melhorias significativas na altura dos vilos, profundidade das criptas e na relação vilo:cripta nos três segmentos do intestino delgado. O butirato, um dos constituintes do pós-biótico, representa uma importante fonte de energia para as células que revestem o intestino, estimulando a diferenciação e apoptose (Elgeddawy, 2020), resultando em melhorias na função intestinal. Da mesma maneira, o proteinato de zinco também é associado a uma melhor função intestinal (Bortoluzzi et al. 2019). Dessa forma, a utilização desses dois componentes de forma conjunta pode potencializar tais efeitos, como o que pôde ser observado no duodeno das aves suplementadas com este aditivo, onde a altura dos vilos, profundidade da cripta e relação vilo:cripta foram melhores que as observadas com a utilização do antibiótico. Já nos segmentos jejuno e íleo, o prebiótico foi o que apresentou os melhores resultados. Estes resultados estão de acordo com pesquisas anteriores que evidenciaram os efeitos positivos de mananoligossacarídeos (MOS) sobre a morfometria intestinal (Hajiaghapour e Rezaeipour, 2018; Cheng et al. 2019).

Para obter informações sobre as vias imunes moleculares envolvidas em frangos de corte pela adição de prebióticos na dieta, os níveis de transcrição do receptor Toll-Like 2, assim das interleucinas 1 beta (IL1- β) e interleucina 2 (IL2) foram analisados. Neste estudo, tanto a utilização do prebiótico quanto a do pós-biótico não influenciou na

expressão dos genes supracitados, indicando que não houve um efeito imunomodulador por parte dos aditivos naturais.

Os transportadores intestinais de nutrientes desempenham um papel crucial na absorção e utilização de nutrientes por animais de produção. O transportador de glicose dependente de sódio (*SGLT1*) é o principal transportador de glicose presente no epitélio intestinal (Kaminski e Wong, 2018), enquanto que o *GLUT2* é um co-transportador de baixa afinidade que exporta glicose, frutose, galactose e manose na membrana basolateral (Mueckler e Thorens, 2013; Slawinska et al., 2019). Já o transportador γ +LAT2 é um transportador que exporta aminoácidos catiônicos em troca de aminoácidos neutros (Fotiadis et al., 2013). Neste estudo, apenas o transportador SGLT1 apresentou um aumento no transporte de glicose. É importante destacar que o mRNA de *SGLT1* pode ser expresso não apenas nas células absortivas que revestem as vilosidades, mas também nas células da cripta (Zhang et al., 2019), porém, em um nível mais baixo em comparação com os enterócitos (Yang et al., 2011). Isso ocorre porque a glicose pode servir como substrato para a proliferação das células-tronco presentes nas criptas (Zhang et al., 2019; Zhou et al., 2018). Portanto, a maior expressão do gene SGLT1 observado no controle negativo pode estar associado a criptas jejunais mais profundas observadas neste tratamento, onde parte da glicose dietética foi utilizada para uma maior atividade proliferativa das células da cripta, aumentando assim a expressão do gene. A utilização do prebiótico e do pós-biótico de forma isolada ou combinada possibilitaram um aumento na expressão do gene *SGLT1* quando comparado com o uso do antibiótico, assim como foi observado na expressão do gene γ +lat2, evidenciando o aumento na absorção de nutrientes proporcionada pelos aditivos naturais, o que refletiu no melhor desempenho observado.

379 **Conclusão**

380 Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que a administração do
381 prebiótico e do pós-biótico de forma isolada nas idades de 22 a 42 e de 1 a 42 dias
382 possibilita melhorias na morfometria intestinal e absorção de nutrientes, desempenho e
383 eficiência alimentar, representando possíveis alternativas na redução do uso de
384 antibióticos nos sistemas de produção de frangos de corte.

385 **Agradecimentos**

386 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
387 Superior (CAPES) pelo apoio financeiro disponibilizado. A empresa Alltech pelos
388 produtos disponibilizados e financiamento das análises.

389 **Referências**

- 390 Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova,
391 A. F., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A. 2018. Postbiotics: Na evolving term
392 within the functional foods field. Trends Food Sci. Technol. 75, pp. 105-114.
393 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009>.
- 394 Ahsan, U., Cengiz, Ö., Raza, I., Kuter, E., Chacher, M. F. A., Iqbal, Z., Çakir, S. 2016.
395 Sodium butyrate in chicken nutrition: the dynamics of performance, gut microbiota, gut
396 morphology, and immunity. World's Poult. Sci. J. 72, 265-275.
397 <https://doi.org/10.1017/S0043933916000210>.
- 398 Allaart, J. G., van Asten, A. J. Gröne, A. 2013. Predisposing factors and prevention of
399 Clostridium perfringens-associated enteritis. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 36,
400 449-464. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2013.05.001>.

Allameh, S., Toghyani, M. 2019. Effect of dietary valine supplementation to low protein diets on performance, intestinal morphology and immune responses in broiler chickens. *Livest. Sci.* 229, pp. 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.025>.

Awad, E. A., Zulkifli, I., Ramiah, S. K., Khalil, E. S., Abdallh, M. E. 2021. Prebiotics supplementation: an effective approach to mitigate the detrimental effects of heat stress in broiler chickens. *World's Poult. Sci. J.* 77, 135-151. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1759222>.

Biswas, A., Mohan, N., Raza, M., Mir, N. A., Mandal, A. 2019. Production performance, immune response and blood biochemical parameters in broiler chickens fed diet incorporated with prebiotics. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 103, 493-500. <https://doi.org/10.1111/jpn.13042>.

Bortoluzzi, C., Lumpkins, B., Mathis, G. F., França, M., King, W. D., Graugnard, D. E., Applegate, T. J. 2019. Zinc source modulates intestinal inflammation and intestinal integrity of broiler chickens challenged with coccidia and *Clostridium perfringens*. *Poult. Sci.* 98, 2211-2219.

Broom, L. J., Kogut, M. H. 2018. The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 204, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.10.002>.

Castanon, J. I. R. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poult. Sci.* 86, 2466-2471. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00249>.

Cheng, Y. F., Chen, Y. P., Chen, R., Su, Y., Zhang, R. Q., He, Q. F., Zhou, Y. M. 2019. Dietary mannan oligosaccharide ameliorates cyclic heat stress-induced damages on intestinal oxidative status and barrier integrity of broilers. *Poult. Sci.* 98, 4767-4776. <https://doi.org/10.3382/ps/pez192>.

Cobb-Vantress. 2008. Manual de manejo de frangos de corte cobb.

426 Del Vesco, A. P., de Souza Khatlab, A., Santana, T. P., Pozza, P. C., Soares, M. A. M.,
 427 Brito, C. O., Gasparino, E. 2020. Heat stress effect on the intestinal epithelial function of
 428 broilers fed methionine supplementation. *Livest. Sci.* 240, 104152.
 429 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104152>.
 430 Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 2015.
 431 Veterinary feed directive. *Federal Register* 80, 31708-31735.
 432 Elgeddawy, S. A., Shaheen, H. M., El-Sayed, Y. S., Elaziz, M. A., Darwish, A., Samak,
 433 D., Batiha, G. E., Mady, R. A., Bin-Jumah, M., Allam, A. A., Alagawany, M., Taha, A.
 434 E., El-Mleeh, A., El-Sayed, S. A. A., El-Hack, M. E. A., Elnesr, S. S. 2020. Effects of the
 435 dietary inclusion of a probiotic or prebiotic on florfenicol pharmacokinetic profile in
 436 broiler chicken. 104, pp. 549-557. <https://doi.org/10.1111/jpn.13317>.
 437 Fotiadis, D., Kanai, Y., Palacín, M. 2013. The SLC3 and SLC7 families of amino acid
 438 transporters. *Mol. Asp. Med.* 34, 139-158. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.007>.
 439 Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S.
 440 J., Reid, G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association
 441 for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of
 442 prebiotics. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 14, 491-502.
 443 Gilbert, E. R., Li, H., Emmerson, D. A., Webb Jr, K. E., Wong, E. A. 2007.
 444 Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the
 445 small intestine of broilers. *Poult. Sci.* 86, 1739-1753.
 446 <https://doi.org/10.1093/ps/86.8.1739>.
 447 Hajiaghapour, M., Rezaeipour, V. 2018. Comparison of two herbal essential oils,
 448 probiotic, and mannan-oligosaccharides on egg production, hatchability, serum
 449 metabolites, intestinal morphology, and microbiota activity of quail breeders. *Livest.*
 450 *Sci.* 210, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.02.007>.

451 International Organization for Standardization. 2003. Microbiology of food and animal
 452 feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria
 453 growing under anaerobic conditions. ISO Norm 15213:2003.

454 International Organization for Standardization. 2004. Microbiology of food and animal
 455 feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* Colony
 456 count technique. ISO Norm 7937:2004.

457 International Organization for Standardization. 2013. Microbiology of food and animal
 458 feed stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations. ISO
 459 Norm 7218-1:2013.

460 International Organization for Standardization. 2017. Microbiology of the food chain -
 461 Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological
 462 examination. Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and
 463 decimal dilution. ISO Norm 6887-1:2017.

464 Kaminski, N. A., & Wong, E. A. 2018. Differential mRNA expression of nutrient
 465 transporters in male and female chickens. Poult. Sci. 97, 313-318.
 466 <https://doi.org/10.3382/os/pex262>.

467 Kim, G. B., Seo, Y. M., Kim, C. H., Paik, L. K. 2011. Effect of dietary prebiotic
 468 supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of
 469 broilers. Poult. Sci. 90, 75-82. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00732>.

470 Klis, F. M., Boorsma, A., De Groot, P. WJ. 2006. Cell wall construction in
 471 *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast 23, 185-202. <https://doi.org/10.1002/yea.1349>.

472 Mahdavi, R., Torki, M. 2009. Study on usage period of dietary protected butyric acid on
 473 performance. J. Anim. Vet. Adv. 8, 1702-1709.

474 Mueckler, M., Thorens, B. 2013. The SLC2 (GLUT) Family of membrane transporters.
 475 Mol. Aspects Med. 34, pp. 121-138. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.07.001>.

476 Paul, M. S., Brisbin, J. T., Abdul-Careem, M. F., Sharif, S. 2013. Immunostimulatory
 477 properties of Toll-like receptor ligands in chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 152,
 478 191-199. [https://doi.org/ 10.1016/j.vetimm.2012.10.013](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.10.013).
 479 Prescott, J.F., Sivendra, R., Barnum, D. A. 1978. The use of bacitracin in the prevention
 480 and treatment of experimentally-induced necrotic enteritis in the chicken. *The Can. Vet.*
 481 *J.* 19, 181-183.
 482 Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Hannas, M. Z., Donzele, J. L., Sakomura, N. K.,
 483 perazzo, F. G., Saraiva, A., Teixeira, M. L., Rodrigues, P. B., Oliveira, R. F., Barreto, S.
 484 L. T., Brito, C. O. 2017. *Brazilian Tables for Poultry and Swine: Composition of*
 485 *Feedstuffs and Nutritional Requeriments.* (4rd ed.) UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.
 486 Slawinska, A., Dunislawska, A., Plowiec, A., Radomska, M., Lachmanska, J., Siwek, M.,
 487 Maiorano, G. 2019. Modulation of microbial communities and mucosal gene expression
 488 in chicken intestines after galactooligosaccharides delivery *In Ovo.* *PLoS One* 14,
 489 e0212318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212318>.
 490 Statistical Analyses System, SAS user's guide: version 8.2, 1028. 2001.
 491 Sweeney M. T., Lubbers B. V., Schwarz S., Watts, J. L. 2018. Applying definitions for
 492 multidrug resistance, extensive drug resistance and pandrug resistance to clinically
 493 significant livestock and companion animal bacterial pathogens. *J. Antimicrob.*
 494 *Chemother.* 73, 1460-1463. <https://doi.org/10.1093/jac/dky043>.
 495 Tania C., Ines L., Ricardo F., Jasmin N., Adelaide, A. 2018. Frequency and antibiotic
 496 resistance of bacteria implicated in community Urinary Tract Infections in North Aveiro
 497 between 2011 and 2014. *Microb. Drug Resist.* 24, 493-504. [https://doi.org/](https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0318)
 498 [10.1089/mdr.2016.0318](https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0318).
 499 Wang, W., Li, Z., Han, Q., Guo, Y., Zhang, B., & D'inca, R. 2016. Dietary live yeast and
 500 mannan-oligosaccharide supplementation attenuate intestinal inflammation and barrier

dysfunction induced by *Escherichia coli* in broilers. *Br. J. Nutr.* 116, 1878-1888. <https://doi.org/10.1017/S0007114516004116>.

Wang, X., Peebles, E. D., Morgan, T. W., Harkess, R. L., Zhai, W. 2015. Protein source and nutrient density in the diets of male broilers from 8 to 21 d of age: Effects on small intestine morphology. *Poult. Sci.* 94, 61-67. <https://doi.org/10.3382/ps/peu019>.

Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y., Zhang, B. 2018. Dietary sodium butyrate improves intestinal development and function by modulating the microbial community in broilers. *PloS one* 13, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197762>.

Yang, c., Albin, D. M., Wang, Z., Stoll, B. Lackeyram, D., Swanson, K. C., Yin., Tappenden, K. A., Mine, Y., Yada, R. Y., Burrin, D. G., Fan, M. Z. 2011. Apical Na⁺-D-glucose cotransporter 1 (SGLT1) activity and protein abundance are expressed along the jejunal crypt-villus axis in the neonatal pig. *Am. J. Gastrointest. Liver. Physiol.* 300, pp. 60-70. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00208.2010>.

Zhang, H., Li, H., Kidrick, J., & Wong, E. A. 2019. Localization of cells expressing SGLT1 mRNA in the yolk sac and small intestine of broilers. *Poult. Sci.*, 98, 984-990. <https://doi.org/10.3382/ps/pey343>.

Zhou, W., Ramachandran, D., Mansouri, A., Dailey, M. J. 2018. Glucose stimulates intestinal epithelial crypt proliferation by modulating cellular energy metabolism. *J. Cell. Physiol.* 233, pp. 3465-3475. <https://doi.org/10.1002/jcp.26199>.