

PERMEABILIDADE E MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICO E DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE COMO BIOMARCADORES DE SAÚDE INTESTINAL

ALISSON GUSTAVO ROTTER², ANDRÉ N. PINTO¹; LAURA GUBERT¹; EDUARDA P. SIMÕES¹; ANA CLARA P. FERREIRA¹; JAMES S. BARBOSA¹; JOVANIR I. M. FERNANDES^{1,2}

¹Laboratório de Experimentação Avícola, Universidade Federal do Paraná- Setor Palotina, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Paraná- Setor Palotina, Brasil.
Contato: alissonrotter@gmail.com / Apresentador: ALISSON GUSTAVO ROTTER

Resumo: O objetivo do trabalho foi avaliar a permeabilidade e a morfometria da mucosa intestinal de frangos de corte suplementados com simbiótico e desafiados experimentalmente como biomarcadores de saúde intestinal. 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 (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. Aos 14 dias de idade, foi aplicado o desafio entérico com vacina comercial para coccidiose (20 vezes a recomendada pelo fabricante) seguido da inoculação de *Escherichia coli* (ATCC® 8739TM). O desafio entérico alterou negativamente a morfometria da mucosa intestinal do duodeno, jejuno e íleo. A suplementação do simbiótico não alterou nenhum parâmetro de integridade e funcionalidade intestinal. A morfologia da mucosa intestinal e a avaliação da permeabilidade intestinal com base em níveis séricos de FITC-d podem ser utilizados como biomarcadores para avaliação da saúde intestinal em frangos de corte submetidos a um modelo de desafio entérico experimental.

PalavrasChaves: FITC-d; Junções firmes; Mananoligossacrídeo; Probiotico

PERMEABILITY AND MORPHOMETRY OF THE INTESTINAL MUCOSA OF BROILERS SUPPLEMENTED WITH SYMBIOTICS AND EXPERIMENTALLY CHALLENGED AS BIOMARKERS OF INTESTINAL HEALTH

Abstract: This aimed of this study to evaluate the permeability and morphometry of the intestinal mucosa of broiler chickens experimentally challenged as intestinal health biomarkers. A total of 864 broiler chicks, 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. 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® 8739TM). The enteric challenge negatively altered the morphometry of the intestinal mucosa of the duodenum, jejunum, and ileum. Symbiotic supplementation did not change any parameters of intestinal integrity and functionality. Intestinal mucosa morphology and intestinal permeability assessment based on serum FITC-d levels can be used as biomarkers to assess intestinal health in broiler chickens submitted to an experimental enteric challenge model.

Keywords: FITC-d; Mannanoligosaccharide; Probiotic; Tight junctions

Introdução: Devido a preocupação com o surgimento de microrganismos resistentes nos animais e possibilidade de transmissão dessa resistência ao homem, o uso de antibióticos como promotores de crescimento vem sendo banido das dietas (RAMOS et al, 2011). O uso de probióticos e prebióticos combinados como simbióticos é uma alternativa de substituição (GADDE et. al, 2017). Entretanto, torna-se fundamental, o desenvolvimento de modelos de desafio experimental que permitam avaliar o efeito desses aditivos sobre a saúde intestinal. Em condições comerciais, as fontes de estresse de origem ambiental, de manejo ou sanitária contribuem para a ocorrência de enterites inespecíficas e piora da saúde intestinal. Além disso, o estudo de ferramentas e biomarcadores é necessário para a avaliação desses distúrbios (DUCANTELLE et al., 2018). O objetivo do trabalho foi avaliar a permeabilidade e a morfometria da mucosa intestinal de frangos de corte desafiados experimentalmente como biomarcadores de saúde intestinal.

Material e Métodos: Todos os procedimentos realizados nas aves foram aprovados pelo Comitê de Ética (CEUA 18/2020). Foram alojados 864 pintos de corte, machos 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. O simbiótico utilizado continha cepas de *Bacillus* spp., *Lactobacillus* sp., *Saccharomyces* sp. e Mananoligossacrídeo e foi fornecido conforme indicação do fabricante. As aves foram alojadas em gaiolas revestidas de papel picado dispostas em 2 salas (grupo desafiado e não desafiado). Aos 14 dias de idade, os grupos de aves desafiadas receberam vacina comercial para coccidiose diretamente no ingluvío de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina. Dois dias após, um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739TM - 109 UFC/ave) foi inoculado diretamente no ingluvío de cada ave dos grupos desafiados. No 19º dia, 24 aves de cada tratamento foram sacrificadas e obtidos fragmentos do duodeno, jejuno, íleo. Para o estudo morfométrico, as imagens foram capturadas e mensurados vilos e criptas. Para avaliar a permeabilidade intestinal, foi utilizada a administração oral de isotiocianato de dextrano de fluoresceína (FITC-d) e quantificada a passagem para o sangue. Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002).

Resultado e Discussão: As análises morfométricas da mucosa do duodeno, jejuno e íleo, aos 19 dias de idade (cinco dias após o desafio experimental) mostraram que o desafio resultou em maior largura do vilão ($p < 0,05$), maior profundidade da cripta ($p < 0,0001$) e menor relação vilão:cripta ($p = 0,05$), e menor área de absorção da mucosa do jejuno e do íleo ($p < 0,0001$), independentemente da inclusão do simbiótico. A maior profundidade da cripta é um indicativo da capacidade compensatória de hiperplasia das células epiteliais em virtude de um maior nível de agressão à mucosa intestinal causada pelo desafio entérico (UNI et al., 1998). Nessa mesma idade, a análise de permeabilidade intestinal mostrou maior ($p < 0,0001$) passagem de FITC-d pela passagem paracelular da mucosa intestinal das aves desafiadas (figura 1), indicando ruptura das junções de oclusão, ocasionando lesão da camada contínua de células epiteliais. Esses resultados corroboram com os obtidos para os parâmetros morfométricos da mucosa, mostrando que essas ferramentas podem ser utilizadas como marcadores da saúde intestinal. O simbiótico testado não afetou ($p > 0,05$) nenhum biomarcador de saúde intestinal. O desafio experimental entérico provavelmente ocasionou desequilíbrio da microbiota intestinal, e, o fato de ser administrado outras cepas pode ter influenciado ainda mais sobre a regeneração da homeostase microbiana. Outro fator importante, é que há possibilidade do simbiótico necessitar de mais tempo para se adequar e estabelecer eubiose (NAKPHAICHIT et al (2011).

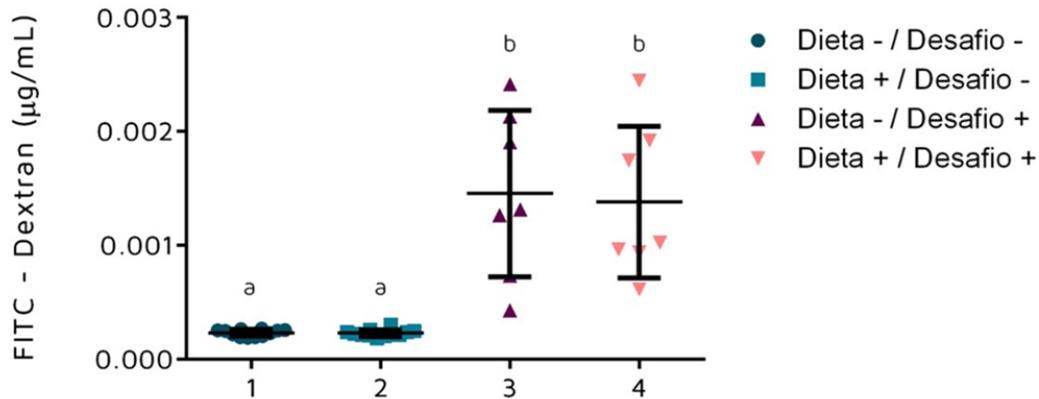


Figura 1: Concentração sérica do marcador FITC-Dextran administrado oralmente.

Conclusão: A morfologia da mucosa intestinal e a avaliação da permeabilidade intestinal com base em níveis séricos de FITC-d podem ser utilizados como biomarcadores para avaliação da saúde intestinal em frangos de corte submetidos a um modelo de desafio entérico experimental.

Agradecimentos: À Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina e ao CNPq.

Referências Bibliográficas: DUCATELLE R.; GOOSSENS E.; DE MEYER F; EECKHAUT V; ANTONISSEN G; HAESEBROUCK F; VAN IMMERSEEL F. Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. *Veterinary Research*.v.8, n.49, p 43, 2018.GADDE U, W. H. KIM, S. OH AND S. LILLEHOJ. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal health research reviews*, v.18, p.26-45, 2017.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*. V.90, n.12, p.2753-65, 2011.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.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*. v.168, n.4, p.241–247, 1998.