

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E DESEMPENHO DE FRANGOS ALIMENTADOS COM ADITIVO FITOGENICO OU IONÓFORO EM RESPOSTA A UM DESAFIO INTESTINAL POR COCCIDIOSE

THAIS B. STEFANELLO¹, CATIANE ORSO¹, CAROLINA H. FRANCESCHI¹, JÉSSICA P. SILVA¹, MICHELE. B. MANN², JEVERSON FRAZZON², ANDRÉA M. L. RIBEIRO¹

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS
Contato: thaisstefanello@gmail.com / Apresentador: THAIS B. STEFANELLO

Resumo: O objetivo foi caracterizar diferenças na microbiota intestinal de frangos alimentados com aditivo ionóforo ou fitogênico em resposta à infecção por *Eimeria* spp.. Os animais foram divididos em 3 grupos: Controle (sem infecção e sem aditivos), Ionóforo (monensina sódica + *Eimeria*) e Fitogênico (aditivo fitogênico + *Eimeria*). Aos 14 dias de idade, as aves dos grupos Ionóforo e Fitogênico foram infectadas com oocistos de *Eimeria* spp. Aos 28 dias, foi coletado o conteúdo intestinal de quatro aves por tratamento para análise da microbiota. O consumo de ração e o ganho de peso foram medidos semanalmente. No período pós-desafio (15-28d), as aves alimentadas com fitogênico exibiram uma redução de 38% e 30% no ganho de peso e uma redução de 24% e 23% no consumo de ração quando comparadas ao grupo Controle e Ionóforo, respectivamente. No período seguinte (29-42d), não foram observadas diferenças no desempenho entre os grupos. O grupo Fitogênico apresentou maiores proporções de *Bacteroides* e *Faecalibacterium* no ceco e maiores *Lactobacillus* em jejuno e íleo em comparação aos outros grupos, indicando o estabelecimento de uma microbiota intestinal favorável. Mas foi capaz de recuperar apenas de forma parcial as perdas iniciais no desempenho causadas pela coccidiose.

PalavrasChaves: Aditivo alimentar; *Eimeria* spp.; frangos de corte; microbioma intestinal

CHARACTERIZATION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA AND PERFORMANCE OF BROILERS FED PHYTOGENIC ADDITIVE OR IONOPHORE IN RESPONSE TO AN INTESTINAL CHALLENGE BY COCCIDIOSIS

Abstract: The objective of this study was to characterize differences in the gut microbiota of chickens fed with ionophore or phytogetic additive in response to an intestinal challenge with *Eimeria* spp.. The broiler chickens were divided in 3 groups: Control (without infection and no additives), Ionophore (Sodium Monensin + *Eimeria* challenged) and Phytogetic (Phytogetic additive + *Eimeria* challenged). At 28 days, the intestinal content of four bird per treatment was collected for microbiota analysis. Feed intake and weight gain for each replicate were measured weekly. In the post-challenge period (15-28d), birds fed with phytogetic exhibited a 38% and 30% reduction in weight gain and a 24% and 23% reduction in feed intake when compared to the control and ionophore groups, respectively. In the following period (29-42d), no differences in performance between groups were observed. The Phytogetic group had higher *Bacteroides* and *Faecalibacterium* proportions in cecum, and highest *Lactobacillus* in jejunum and ileum compared to other groups, indicating the establishment of a favorable gut microbiota. But was only able to partially recover the initial losses in performance caused by coccidiosis.

Keywords: Chicken; *Eimeria* spp.; feed additive; gut microbiome

Introdução: A coccidiose, uma doença intestinal em aves, é causada por vários parasitas apicomplexos do gênero *Eimeria* que infectam o intestino e são transmitidos entre as aves por meio da ingestão de oocistos infectantes (Dalloul e Lillehoj, 2006). A invasão de *Eimeria* spp. danifica as células epiteliais intestinais e interrompe a homeostase intestinal (Gilbert et al., 2011). Atualmente, ionóforos são amplamente utilizados para controlar e prevenir a coccidiose, entretanto a potencial proibição mundial de medicamentos anticoccidianos tem pressionado a indústria avícola a buscar alternativas viáveis (Yegani e Korver, 2008). Dentre as alternativas disponíveis, os aditivos fitogênicos são uma estratégia de combate à coccidiose, podendo apresentar propriedades comparáveis às drogas sintéticas (Abbas et al., 2017). Portanto, o objetivo foi investigar os efeitos do aditivo fitogênico na microbiota intestinal e no desempenho de frangos desafiados por coccidiose e compará-lo à monensina sódica.

Material e Métodos: Um total de 120 pintos de corte machos de um dia de idade (Cobb 500) foram alojados em boxes de 1 m². Os animais foram divididos em três grupos: grupo Controle (dieta basal sem qualquer aditivo e sem desafio com *Eimeria*), grupo Ionóforo (dieta basal suplementada com monensina sódica, 100 ppm + desafio com *Eimeria*) e grupo Fitogênico (dieta basal suplementada com aditivo fitogênico, 750 ppm + desafio com *Eimeria*). O produto fitogênico comercial é composto por uma mistura de plantas, como *Acacia concinna* e *Saccharum officinarum*. Aos 14 dias de idade, as aves dos grupos Ionóforo e Fitogênico foram desafiadas por inoculação oral com uma solução contendo oocistos esporulados de *E. tenella* (1×10^4), *E. acervulina* (20×10^4) e *E. maxima* (8×10^4). A dosagem de *Eimeria* foi escolhida com base em estudos anteriores (Moraes et al., 2019). O consumo de ração e o ganho de peso foram medidos semanalmente e usados para calcular o desempenho os dias 0-14 (antes do desafio), 15-28 (após o desafio) e 29-42. Aos 28 dias de idade, quatro frangos por grupo foram eutanasiados para coleta de conteúdo intestinal. A partir do conteúdo de jejuno, íleo e ceco, o DNA genômico total foi extraído e o sequenciamento realizado na plataforma Illumina MiSeq. A análise de bioinformática usou o framework QIIME2 2020.11 (Bolyen et al., 2019). Os dados de desempenho foram analisados por ANOVA e os grupos foram comparados usando Tukey no R (R Core Team). Para as análises, o nível de significância considerado foi $P < 0,05$ e tendência em $P < 0,10$.

Resultado e Discussão: O desempenho dos animais foi negativamente afetado pelo desafio de coccidiose aos 14 dias de vida (Tabela 1). Nas semanas seguintes à infecção por coccidiose, os frangos que receberam fitogênicos exibiram uma redução de 30% e 23% no ganho de peso e no consumo de ração, respectivamente, em comparação ao grupo Ionóforo. No entanto, entre os dias 29-42, não houve diferenças. Mesmo assim, ao final dos 42 dias, os frangos alimentados com aditivo fitogênico tiveram redução significativa do peso vivo final, 12% e 9%, em comparação aos grupos Controle (sem infecção) e Ionóforo, respectivamente. Ao nível de filo (Figura 1A), o grupo Fitogênico apresentou maior proporção de Bacteroidetes no ceco em comparação aos outros grupos. No jejuno e íleo, Firmicutes foram mais abundantes na microbiota desse grupo (99,63% no íleo e 98,94% no jejuno). Por sua vez, o grupo Ionóforo apresentou uma proporção relativa maior de Proteobacteria no jejuno e de Cyanobacteria no jejuno e íleo. Ao nível de gênero (Figura 1B), o grupo Fitogênico apresentou maiores proporções de *Bacteroides* e *Faecalibacterium* no ceco e maior proporção de *Lactobacillus* no jejuno e no íleo. Enquanto isso, os grupos Ionóforo e Controle apresentaram maior proporção de *Corynebacterium* no jejuno e no íleo. É importante salientar que os gêneros *Bacteroides*, *Faecalibacterium* e *Lactobacillus* estão relacionados à produção de ácidos graxos de cadeia curta, os quais fornecem um ambiente inibitório para crescimento de bactérias patogênicas e auxiliam a microbiota benéfica dos hospedeiros (McReynolds et al., 2009; Martín et al., 2017).

Tabela 1. Efeito do uso de aditivo ionóforo e fitogênico no desempenho produtivo de frangos de corte desafiados por coccidiose.

	Controle	Ionóforo	Fitogênico	Erro padrão da média	Valor de P
Ganho de peso (g)					
Período 1-14 dias	433a	418a	360b	11,4	0,004
Período 15-28 dias	1173a	1051b	733c	56,4	<0,001
Período 29-42 dias	1514	1546	1529	29,1	0,914
Consumo de ração (g)					
Período 1-14 dias	557a	566a	491b	13,4	0,015
Período 15-28 dias	1629a	1615a	1238b	52,6	0,018
Período 29-42 dias	2433	2518	2589	34,2	0,174
Conversão alimentar (g/g)					
Período 1-14 dias	1,29b	1,35ab	1,37a	0,02	0,069
Período 15-28 dias	1,41b	1,53b	1,84a	0,06	0,002
Período 29-42 dias	1,61	1,63	1,69	0,02	0,338

Grupos: Controle (sem aditivos e sem infecção), Ionóforo (Monensina sódica, 100 ppm + desafio por *Eimeria*) e Fitogênico (Aditivo fitogênico, 750 ppm + desafio por *Eimeria*).
a,b - Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre as respectivas médias (P<0,05 e P<0,10)

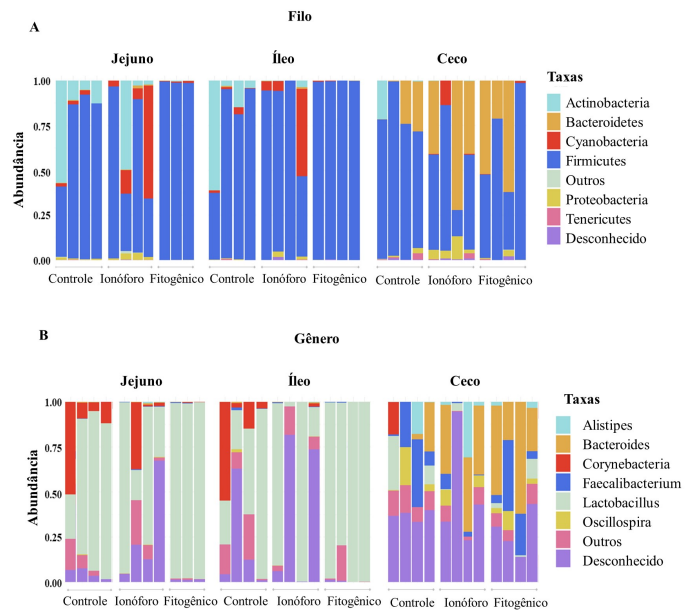


Figura 1. Abundância relativa da microbiota intestinal nos níveis de filo (A) e gênero (B). As abundâncias relativas das bactérias intestinais apresentadas aqui foram calculadas pela média dos dados obtidos a partir das quatro repetições dentro de cada grupo. Gêneros bacterianos menores e valores não atribuídos foram incluídos como "outros". Grupos: Controle (sem aditivos e sem infecção), Ionóforo (Monensina sódica, 100 ppm + desafio por *Eimeria*) e Fitogênico (Aditivo fitogênico, 750 ppm + desafio por *Eimeria*).

Conclusão: O aditivo fitogênico contribuiu para o estabelecimento de uma microbiota intestinal favorável. A infecção por *Eimeria* afetou o desempenho dos frangos, no entanto a suplementação do fitogênico à dieta foi capaz de recuperar, apenas de forma parcial, as perdas iniciais no desempenho. Por atuar mais lentamente na recuperação das aves, o produto pode ser avaliado em aves de ciclo produtivo mais longo.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte na realização dos experimentos.

Referências Bibliográficas: Abbas, A.; et al. In vivo anticoccidial effects of Beta vulgaris (sugar beet) in broiler chickens. Microbial pathogenesis, v. 111, p. 139–144, 2017. Bolyen, E.; et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nature biotechnology, v. 37, n. 8, p. 852–857, 2019. Dalloul, R. A.; Lillehoj, H. S. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. Expert Review of Vaccines, v. 5, n. 1, p. 143-163, 2006. Gilbert, E. R.; et al. Eimeria species and genetic background influence the serum protein profile of broilers with coccidiosis. PLoS One, v. 6, n. 1, 2011. Martín, R.; et al. Functional characterization of novel Faecalibacterium prausnitzii > strains isolated from healthy volunteers: a step forward in the use of F. prausnitzii > as a next-generation probiotic. Frontiers in Microbiology, v. 8, p. 1226, 2017. McReynolds, C.; Wanek, C.; Byrd, J.; Genovese, K.; Duke, S.; Nisbet, D. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytochemical products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. Poultry Science, v. 88, n. 10, p. 2075–2080, 2009. Moraes, P. O.; et al. Comparison between a commercial blend of functional oils and monensin on the performance and microbiota of coccidiosis-challenged broilers. Poultry Science, v. 98, n. 11, p. 5456–5464, 2019. Yegani, M.; Korver, D. R. Factors affecting intestinal health in poultry. Poultry Science, v. 87, n. 10, p. 2052–2063, 2008.