RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 08/04/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DE FATORES PREDISPONENTES DE ENTERITE NECRÓTICA EM FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE DESAFIADOS

LARISSA JUSTINO

Botucatu-SP
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DE FATORES PREDISPONENTES DE ENTERITE NECRÓTICA EM FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE DESAFIADOS

LARISSA JUSTINO

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Campus de Botucatu - SP, para obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária

Orientador: Prof.Dr. Raphael Lucio Andreatti Filho

Coorientadora: Profª.Drª. Ana Angelita Sampaio Baptista

Botucatu-SP
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Justino, Larissa.
Avaliação de fatores predisponentes de enterite necrótica em frangos de corte experimentalmente desafiados / Larissa Justino. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Raphael Lucio Andreatti Filho
Coorientador: Ana Angelita Sampaio Baptista
Capes: 50503014

1. Frangos de corte. 2. Enterite. 3. *Clostridium perfringens*. 4. Causalidade.

Palavras-chave: *Clostridium perfringens*; Enterite necrótica; Fatores predisponentes.

Nome do Autor: Larissa Justino

Título: AVALIAÇÃO DE FATORES PREDISPONENTES DE ENTERITE NECRÓTICA EM FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE DESAFIADOS.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Raphael Lucio Andreatti Filho
Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof.Dr. Adriano Sakai Okamoto
Membro
Departamento de Clinica Veterinaria
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof.Dr. Edir Nepomuceno da Silva
Membro
Departamento de Tecnologia de Alimentos
UNICAMP – Campinas

Data defesa: 08 de abril de 2022

A Deus e a meus pais

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser meu melhor amigo, por estar sempre ao meu lado, ajudando, confortando, guiando meus passos, Ele é a minha certeza de que tudo ficará bem.

Aos meus pais, Joel Justino e Rozemari Aparecida Justino, por todo apoio, carinho e amor. Sempre estiveram ao meu lado, me dando conselhos, abraços e um ombro amigo, dedico a eles todas as minhas conquistas. Sou infinitamente grata por tê-los em minha vida, amo vocês.

Ao meu orientador professor Raphael Lucio Andreatti Filho pela disponibilidade, paciência e ensinamentos durante o desenvolvimento do trabalho.

A minha querida coorientadora professora Ana Angelita Sampaio Baptista pelo apoio, paciência e auxilio durante o desenvolvimento do trabalho e pelos ensinamentos ao longo dos anos, que me fizeram crescer profissionalmente e pessoalmente.

Aos membros da banca professor Adriano Sakai Okamoto e Edir Nepomuceno da Silva, por terem aceito o convite, pelo tempo dispensado para corrigir este trabalho e pelas críticas e sugestões.

Ao pessoal do Laboratório de Medicina Aviária, João Vitor, Giovanna Bazo e Barbara Tiemi, pelo auxílio nos manejos das aves e durante as necropsias.

A Marielen de Souza, minha amiga que ajudou durante o experimento, pelo apoio emocional, por ser minha companhia diária e sempre me ouvir e oferecer o ombro amigo, sou grata a Deus por ter colocado você no meu caminho.

A minha amiga, Maisa Menck por sempre estar disposta a ajudar, pela parceria durante todos esses anos, por me ouvir e me dar os melhores conselhos, sou grata por sua vida.

Ao pessoal do Laboratorio de Ornitopatologia da UNESP-Botucatu, Camila Oro, Cauê Tertuliano, Tais Coletti, Gabriella Ribeiro e Ana Carolina, por ter me recebido de braços abertos no laboratório e pela amizade.

A professora Ana Paula Bracarense, pelo auxílio no trabalho e por disponibilizar o Laboratório de Anatomia Patologica Animal para realização

das análises histopatológicas.

Quero também agradecer a todos os meus familiares, que sempre me apoiaram. Aos meus amigos de graduação Letícia Santos, Karina Ono, Bárbara Rodrigues, Letícia Vida e Leonardo de Souza (*in memoriam*) por todos os bons momentos, risadas, amizade e apoio que tive em todos esses anos.

À CAPES pela concessão da bolsa, que viabilizou a execução deste projeto. A empresa GhenVet pelo auxilio financeiro no desenvolvimento do trabalho. A UEL, UNESP-Botucatu, ao Laboratório de Medicina Aviária, Laboratório de Ornitopatologia, Laboratório de Patologia Animal e a todos que contribuíram de certa forma para conclusão desta etapa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos grupos G1-controle negativo, G2- CP13 + *Eimeria* spp.; G3- CP13 + IBVD, G4- CP13 + *Eimeria* spp. + IBVD; G5- CP14 + *Eimeria* spp.; G6- CP14 + IBVD; G7- CP14 + *Eimeria* spp. + IBVD; G8- CP03 + *Eimeria* spp.; G9- CP03 + IBVD; G10- CP03 + *Eimeria* spp. + IBVD; G11- *Eimeria* spp.....20

Tabela 2 - Escore de lesão adotado para avaliar as lesões observadas no intestino das aves, descrito por Cravens et al. (2013).....22

Tabela 3 - Escore de lesão adotado para avaliar as lesões observadas no intestino das aves, descrito por Dahiya et al. (2005).....22

Tabela 4 - Escore de lesão adotado para avaliar as lesões observadas no intestino das aves, descrito Teirlynck et al. (2011)..... 23

Tabela 5 - Média do escore de lesão macroscópica segundo a metodologia de Cravens et al. (2013), Dahiya et al. (2005) e Teirlynck et al. (2011), dos diferentes grupos..... 27

Tabela 6 - Média (*Log 10*) da quantificação bacteriana em aerobiose e anaerobiose presentes no fígado das aves dos diferentes grupos.....29

Tabela 7 - Média da cotagem de linfócitos intraepiteliais (IELs) do intestino delgado e células caliciformes das aves dos diferentes grupos.....31

Tabela 8 - Média do escore de lesão microscópico do duodeno e jejuno dos grupos administrados *Eimeria* spp.....31

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Presença de desuniformidade entre os grupos em relação ao controle negativo. G1-controle negativo; G2- CP13 + *Eimeria* spp.; G3- CP13 + IBVD.; G4- CP13 + *Eimeria* spp. + IBVD; G5- CP14 + *Eimeria* spp.; G6- CP14 + IBVD; G7- CP14 + *Eimeria* spp. + IBVD; G8- CP03 + *Eimeria* spp.; G9- CP03 + IBVD; G10- CP03 + *Eimeria* spp. + IBVD; G11- *Eimeria* spp.....26

FIGURA 2. Média da altura das vilosidades, profundidade das criptas e relação vilo/cripta dos diferentes grupos. G1-controle negativo; G2- CP13 + *Eimeria* spp.; G3- CP13 + IBVD.; G4- CP13 + *Eimeria* spp. + IBVD; G5- CP14 + *Eimeria* spp.; G6- CP14 + IBVD; G7- CP14 + *Eimeria* spp. + IBVD; G8- CP03 + *Eimeria* spp.; G9- CP03 + IBVD; G10- CP03 + *Eimeria* spp. + IBVD; G11- *Eimeria* spp.....30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC Antibióticos Promotores de Crescimento

CP Clostridium perfringens

DDV Dias de Vida

EN Enterite Necrótica

IBDV Infectious bursal disease virus

PCR Polymerase Chain Reaction

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....

ABSTRACT.....

1 INTRODUÇÃO.....11

2 REVISÃO DE LITERATURA.....12

3 OBJETIVOS.....19

3.1 Objetivo geral.....19

3.2 Objetivos específicos.....19

4 MATERIAL E MÉTODOS.....19

4.1 Extração e PCR das amostras de *Clostridium perfringens*.....19

4.2 Grupos experimentais.....20

4.3 Infecção experimental.....20

4.3.1 Dieta Experimental.....20

4.3.2 Desafio Com Vacina De Coccidiose e Gumboro.....20

4.3.3 Preparo do Inóculo e Desafio Com Clostridium perfringens.....21

4.4 Avaliação macroscópica do intestino.....21

4.5 Colheita do fígado para quantificação em aerobiose e anaerobiose....23

4.6 Avaliação microscópica do intestino.....23

4.6.1 Morfometria Intestinal.....24

4.6.2 Contagem de Células Caliciformes do Íleo e Linfócitos Intraepiteliais do Intestino Delgado.....24

4.6.3 Contagem de Linfócitos Intraepiteliais do Intesitno Delgado.....24

4.6.4 Escore de lesão microscópico do intestino.....24

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....25

6 RESULTADOS.....25

6.1 Infecção Experimental.....25

6.2 Avaliação Macroscópica do Intestino.....26

6.3 Quantificação de Bactérias Aeróbicas e Anaeróbicas do Fígado.....28

6.4 Avaliação Microscópica do Intestino.....29

6.4.1 Morfometria Intestinal.....29

6.4.2 Contagem de Células Caliciformes do Íleo e Linfócitos Intraepiteliais do Intestino Delgado.....30

6.4.3 Escore de lesão microscópico do intestino.....31
7 DISCUSSÃO.....32
8 CONCLUSÕES.....38
9 BIBLIOGRAFIA.....39
10 TRABALHO CIENTÍFICO.....48

JUSTINO, L. **Avaliação de fatores predisponentes de enterite necrótica em frangos de corte experimentalmente desafiados.** Botucatu, 2021. 75p. Dissertação- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A enterite necrótica (EN) é considerada uma das principais doenças de alto impacto na avicultura, sendo o *Clostridium perfringens* (CP) o agente etiológico. Para compreensão da patogênese da doença e controle da doença é necessário a indução experimentalmente da EN, todavia, é relatado dificuldades entre os pesquisadores e por se tratar de uma doença multifatorial o uso de fatores predisponentes vem sendo empregado, diante disso, o objetivo deste estudo foi induzir EN utilizando fatores que predispõem a enterite necrótica em frangos de corte, como imunossupressão (IBVD), *Eimeria* spp. associados a dieta a base de trigo e desafio com três cepas de CP tipo G (CP13, CP14, CP03). Para isso, frangos de corte (n=94), Ross foram distribuídos em 11 grupos. As aves foram desafiadas entre 15-19º dias de vida (ddv), via oral (10^7 UFC/mL CP) e autopsiadas no 20ºdv para avaliação de lesão macroscópica intestinal frente a três modelos de escore distintos, colheita de fígado para quantificação de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, avaliação morfométrica intestinal, contagem de linfócitos intraepiteliais do intestino delgado e células caliciformes do íleo. Foi observado diferença significativa nas lesões macroscópicas entre os grupos frente aos diferentes escores, sendo que foi encontrado diferença no resultados entre os modelos utilizados. Na quantificação de bacterias anaerobicas do fígado, o grupo com CP14+Eimeria+IBDV obteve a maior média entre os grupos e na contagem de linfócitos os grupos contendo *Eimeria* spp. apresentaram as maiores médias. Na análise da altura das vilosidades observou-se efeito da *Eimeria* spp. sobre a diminuição dos vilos e menor relação vilo/cripta. Na analise do escore microscópico, observou-se que a *Eimeria* spp teve um efeito nas lesoes encontradas. No presente estudo ficou evidente que existirá um efeito sinérgico entre a cepa empregada e os fatores predisponentes, todavia, não ficou claro qual fator predisponente é mais eficaz em potencializar as lesões, sugerindo que para cada protocolo experimental seja avaliada, previamente, a associação da cepa aos fatores.

Palavras-chave: Enterite necrótica; Fatores predisponentes; *Clostridium perfringens*.

JUSTINO, L. **Evaluation of predisposing factors for necrotic enteritis in experimentally challenged broiler chickens.** Botucatu, 2004. 75p. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Necrotic enteritis (NE) is considered one of the main diseases with a high impact on poultry, and *Clostridium perfringens* (CP) is the etiologic agent. In order to understand the pathogenesis of the disease and control the disease, the experimental induction of EN is necessary, however, difficulties are reported among researchers and because it is a multifactorial disease, the use of predisposing factors has been used. was to induce EN using factors that predispose to necrotic enteritis in broilers, such as immunosuppression (IBVD), *Eimeria* spp. associated with a wheat-based diet and challenge with three strains of type G CP (CP13, CP14, CP03). For this, broilers (n=94), Ross were distributed in 11 groups. The birds were challenged between the 15th and 19th days of life (dl), orally (107 CFU/mL CP) and autopsied at the 20th dv for evaluation of macroscopic intestinal injury against three different scoring models, liver harvest for quantification of aerobic bacteria and anaerobic, intestinal morphometric evaluation, intraepithelial lymphocyte count of the small intestine and goblet cells of the ileum. A significant difference was observed in macroscopic lesions between the groups in relation to the different scores, and a difference was found in the results between the models used. In the quantification of anaerobic bacteria in the liver, the group with CP14+*Eimeria*+IBDV had the highest mean between the groups and in the lymphocyte count the groups containing *Eimeria* spp. showed the highest averages. In the analysis of villus height, an effect of *Eimeria* spp. on the decrease of villi and lower villus/crypt ratio. In the analysis of the microscopy score, it was observed that *Eimeria* spp had an effect on the lesions found. In the present study, it was evident that there will be a synergistic effect between the strain used and the predisposing factors, however, it was not clear which predisposing factor is more effective in potentiating the lesions, suggesting that, for each experimental protocol, the association of the strain must be previously evaluated. to the factors

Key words: Necrotic enteritis; Predisposing factors; *Clostridium perfringens.*

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da indústria avícola no Brasil é consequência da integração genética, nutrição e sanidade das aves, estes fatores permitiram que o país alcançasse a terceira posição no *ranking* de países produtores de carne de frangos, atingindo uma produção de 13,8 milhões de toneladas, deste montante 69% foram destinados ao mercado interno, sendo o consumo *per capita* 45,27 kg/hab (ABPA, 2021). No que se refere a exportações de carne de frango, o Brasil encontra-se na primeira posição de exportação mundial do produto e contribuí com cerca de 3,5 milhões de empregos de forma direta e indireta (ABPA, 2018).

Os antibióticos promotores de crescimento (APC) foram utilizados por longos anos na dieta dos animais de produção, com a finalidade de aumentar o ganho de peso e melhora na conversão alimentar, e consequentemente a lucratividade na produção avícola, porém, o uso indevido contribuiu para seleção de bactérias resistentes, disseminação de genes de resistência e detecção de resíduos de antibiótico na carcaça dos animais (IMMERSEEL et al., 2008). Com a proibição do uso APC, em 2006 pela União Europeia (IMMERSEEL et al., 2016), na perspectiva de reduzir a seleção de bactérias resistentes, houve aumento do número de casos de enterite necrótica (EN) em frangos de corte, causada pela bactéria *Clostridium perfringens*, proporcionando perdas econômicas significativas na indústria avícola (TIMBERMONT et al., 2011).

Por longos anos, a patogênese da EN vem sendo estudada, a fim de desenvolver estratégias eficazes de prevenção e controle (YANG et al., 2018), pelos prejuízos causados por esta doença, todavia, os fatores predisponentes essenciais para o indução da doença, não estão totalmente elucidados, devido a diversas variaveis que podem alterar o equilíbrio da microbiota intestinal, levando ao aparecimento da doença (TSIOURISET, 2016). Com isso, a indução experimental da EN torna-se difícil, com diversos protocolos descritos na literatura. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar os fatores predisponentes para a indução de EN em frangos de corte alimentados com dieta a base de trigo, e desafiados com três de cepas diferentes de *Clostridium perfringens* tipo G, associados administração de 10 vezes a dose recomendada pelo fabricante de vacina de coccidiose e/ou Gumboro.

8 CONCLUSÕES

No estudo atual, foi demonstrado que há um efeito sinérgico entre a cepa empregada e os fatores predisponentes, entretanto, não ficou bem estabelecido qual fator predisponente é mais eficaz em potencializar as lesões, assim, é necessario que cada protocolo experimental seja avaliada, previamente, a associação da cepa aos fatores.

Entre os três modelos de escores macroscópicos foi observado diferença significativa, sendo que o modelo descrito por Teirlynck et al. (2011), representou melhor as lesões encontradas em nosso estudo.

Foi observado presença de bactérias aeróbicas e anaeróbicas no fígado em todos os grupos, com diferença significativa apenas na quantificação de bactérias anaeróbicas. Em relação a cepa CP14 não foi observado diferença influencia dos fatores IBVD e *Eimeria* spp., já a cepa CP13 associado ao IBVD e CP03 associado a *Eimeria* spp. e IBVD favoreceram o aumento na quantificação de bactérias anaeróbicas no fígado das aves.

Na análise morfométrica, no duodeno, jejuno e íleo foi observado que a *Eimeria* spp. teve um efeito na diminuição na altura das vilosidades. Nas análise das criptas e relação vilosidade/cripta no duodeno e jejuno, foi observado maiores profundidades e menor relação V/C nas cepas CP13 e CP14.

Na contagem dos linfócitos intraepiteliais, o fator *Eimeria* spp. também teve um efeito no aumento da contagem.

9 BIBLIOGRAFIA

ABILDGAARD, L.; SONDERGAARD, T.E.; ENGBERG, R.M.; SCHRAMM, A.; HOJBERG, O. *In vitro* production of necrotic enteritis toxin B, NetB, by netB-positive and netB-negative Clostridium perfringens originating from healthy and diseased broiler chickens. *Veterinary Microbiology*, v.29, n.144, pág.231-235, 2010.

ABD EL-HACK, M.E.; EL-SAADONY, M.T.;Y ELBESTAWY, A.R.; EL-SHALL, N.A.; SAAD, A.M.; SALEM, H.M.; EL-TAHAN, A.M.; KHAFAGA, A.F.; TAHA, A.E.; ABUQAMAR, S.F.; EL-TARABILY, K.A. Necrotic enteritis in broiler chickens: disease characteristics and prevention using organic antibiotic alternatives-a comprehensive review. **Poultry Science**, v.101, n.2, 101590, 2022.

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. Resumo do setor de Aves/O Brasil Avícola, 2018

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório anual, 2021.

ADHIKARI, P.; KIESS, A.; ADHIKARI, R.; JHA, R. An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis. **Journal of Applied Poultry Research**, v.29, pág.515-534, 2020.

ALBORNOZ, L.A.L.; NAKANO, V.; AVILA-CAMPOS, M.J.Clostridium perfringens e a enterite necrótica em frangos: principais fatores de virulência, genéticos e moleculares Clostridium perfringens and necrotic enteritis in poultry: virulence, genetic and molecular factors. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.51, n.3, p.178-193, 2014.

ANNETT, C.B.; VISTE, J.R.; CHIRINO-TREJO, M.; CLASSEN, H.L.; MIDDLETON, D.M.; SIMKO, E. Necrotic enteritis: Effect of barley, wheat and corn diets on proliferation of *Clostridium perfringens* type A. **Avian Pathology**, v.31, n.6, pág.598-601, 2002.

ANTONISSEN, G.; EECKHAUTA, V.; DRIESSCHEA, K.V.; ONRUSTA, L.; HAESEBROUCKA, F.; DUCATELLEA, R.; MOOREC, R.J.; IMMERSEEL, F.V. Microbial shifts associated with necrotic enteritis. **Avian Pathology**, v.45, n.3, 308-312, 2016.

BORTOLUZZI, C.; VIEIRA, B.S.; HOFACRE, C.; APPLEGATE, T.J. Effect of different challenge models to induce necrotic enteritis on the growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens. **Immunology, Health and Disease**, v.98, pág. 2800-2812, 2019.

BROOM, L.J. Necrotic enteritis current knowledge and diet-related mitigation. **World's Poultry Science Journal**, v.73, n.2, pág.281-292, 2017.

CALEFI, A.S.; QUINTEIRO-FILHO, W.M.; DE SIQUEIRA, A.; LIMA, A.P.N.; CRUZ, D.S.G.; HAZARBASSANOV, N.Q.; SALVAGNI, F.A.; BORSOI, A.; GOMES, C.O.; MAIORKA, P.C. Heat stress, Eimeria spp. and C. perfringens infections alone or in combination modify gut Th1/Th2 cytokine balance and avian necrotic enteritis pathogenesis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.210, pág.28-37, 2019.

CALY, D.L.; D'INCA, R., AUCLAIR, E.; DRIDER, D. Review: alternatives to Antibiotics to Prevent Necrotic Enteritis in Broiler Chickens: A Microbiologist's Perspective. **Frontiers Microbiology**, v.6, n.1336, 2015.

CHAKARBARTI G.; MCCLANE BA. The importance of calcium influx, calpain and calmodulin for the activation of CaCo-2 cell death pathways by *Clostridium perfringens* enterotoxin. *Cellular Microbiology*, v.7, n.1, pág.129-146, 2005.

CHALMERS, G.; BRUCE, H.L.; TOOLE, D.L.; BARNUM, D.A.; BOERLIN, P. Necrotic Enteritis Potential in a Model System Using *Clostridium perfringens* Isolated from Field Outbreaks. **Avian diseases**, v.51, pág.834-839, 2007.

CHAPMAN, H. D. Milestones in avian coccidiosis research: A review. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 501-511, 2014.

COLE, A.R.; MOSS, D.S.; TITBALL, R.W.; BASAK, A.K. **Molecular architecture and functional analysis of NetB, pore-forming toxin from** *Clostridium perfringens.* **Journal of Biological Chemistry**, v.288, pág.3512-3522, 2013.

COLLIER, C.T.; HOFACRE, C.L.; PAYNE, A.M.; ANDERSON, D.B.; KAISER, P.; MACKIE, R.I.; GASKINS, H.R. Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. **Veterinary Immunology & Immunopathology**, v.122, pág.104-115, 2008.

COOPER, K.K.; SONGER, J.G. Necrotic enteritis in chickens: A paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. **Anaerobe,** v.15, p.55-60, 2009.

COOPER, K.K.; SONGER, J.G.; UZAL, F.A. Diagnosing clostridial enteric disease in poultry. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,** v.25, n.3, pág.314-327, 2013.

COOPER, K.K; SONGER, J.G. Virulence of *Clostridium perfringens* in an experimental model of poultry necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, vol.142, n.3, pág.23-328, 2010.

CRAVENS, R.L.; GOSS, G.R.; CHI, F.; DE BOER, E.D.; DAVIS, S.W.; HENDRIX, S.M.; RICHARDSON, J.A.; JOHNSTON, S.L. The effects of necrotic enteritis, aflatoxin B1, and virginiamycin on growth performance, necrotic enteritis lesion scores, and mortality in young broilers. **Poultry Science**, v.92, n.8, p.1997-2004, 2013.

CRAWLEY, S.W.; MOOSEKER, M.S.; TYSKA, M.J. Shaping the intestinal brush border. **Journal of Cell Biology**, v.207, n.4, pág.441-451, 2014.

CRIADO-MESAS, L.; ABDELLI, N.; NOCE, A.; FARRÉ, M.; PÉREZ, J.F.; SOLÀ-ORIOL, D.; MARTIN-VENEGAS, R.; FOROUZANDEH, A.; GONZÁLEZ-SOLÉ, F.; FOLCH, J.M. Transversal gene expression panel to evaluate intestinal health in broiler chickens in diferente challenging conditions. **Nature**, v.11, n.6315, 2021.

CRISPO, M.; SIMONE, T.S.; UZAL, F.A.; BICKFORD, A.A.; SHIVAPRASAD, H.L. Nonenteric lesions of necrotic enteritis in commercial chickens in California: 25 cases (2009–2018). **Avian Diseases**, v.64, n.3, pág.356-364, 2020.

DAHIYA, J.P.; HOEHLER, D.; WILKIE, D.C.; VAN KESSEL, A.G.; DREW, M.D.

Dietary Glycine Concentration Affects Intestinal *Clostridium perfringens* and *Lactobacilli* Populations in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v.84, pág.1875-1885, 2005.

DANESHMAND, A.; KERMANSHAHI, H.; SEKHAVATI, M.H.; JAVADMANESH, A.; AHMADIAN, M.; ALIZADEH, M.; ALDAWOODI, A. Effects of cLFchimera peptide on intestinal morphology, integrity, microbiota, and immune cells in broiler chickens challenged with necrotic enteritis. **Nature research**, v.10, n. 17704, 2020.

DU, E.; WANG, W.; ZHUI, L. G.; GUO, S.; GUO Y. Effects of thymol and carvracol supplementationn on intestinal integrity and imune responses of broiler chickens challenged with Clostridium perfringens. **Journal of Animal Science and Biotechnology***,* v.7; p.19, 2016.

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. 49, n. 1, p. 43, 2018.

DÜRRE, P. From Pandora's Box to cornucopia: Clostridia -a historical perspective. In: Bahl, H, Dürre, P, editors Clostridia: biotechnology and medical applications. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH; 20011. 1–17.

FASINA, Y.O.; LILLEHOJ, H.S. Characterization of intestinal immune response to Clostridium perfringens infection in broiler chickens.**Poultry Science**, v.98, pág.188-198, 2019.

FERREIRA, J. C.; PENHA FILHO, R. A.; KUAYE, A. P. Y.; ANDRADE, L. N.; BERCHIERI JUNIOR, A.; DARINI, A. L. C. Identification and characterization of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in Enterobacteriaceae isolated from healthy poultry in Brazil. Infection, *Genetics and Evolution*, v.60, p. 66-70, 2018.

FORDER, R.E.A.; NATTRASS, G.S.; GEIER, M.S.; HUGHES, R.J.; HYND, P.I. Quantitative analyses of genes associated with mucin synthesis of broiler chickens with induced necrotic enteritis. **Poultry Science**, v. 91, pág.1335-1341, 2012.

GHOLAMIANDEHKORDI, A.R.; TIMBERMONT, L.; LANCKRIET, A.; BROECK, W.V.D.; PEDERSEN, K.; DEWULF, J.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Quantification of gut lesions in a subclinical necrotic enteritis model, **Avian Pathology**, v.36, n.5, pág.375-382, 2007.

GOHARI, I.M.; NAVARRO, M.A.; LI, J.; SHRESTHA, A.; UZAL, F.; MCCLANE, B.A. Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*. *Virulence*, v.12, n.1, pág.723-753, 2021.

GOLDER, H.M.; GEIER, M.S.; FORDER, R.E.A.; HYND, P.I.; HUGHES, R.J. Effects of necrotic enteritis challenge on intestinal micro-architecture and mucin profile, British. **Poultry Science**, v.52, n.4, pág.500-506, 2011.

HERMANS, P.G.; MORGAN, K.L. Prevalence and associated risk factors of necrotic enteritis on broiler farms in the United Kingdom; a cross-sectional survey. *Avian Pathology*, v.36, n.1, pág.43-51,2007.

HORNINK, G. G.; KAWAZOE, U. **Coccidiose aviária: um parasito de galinha doméstica**. [s.l.] Universidade Federal de Alfenas, 2020.

HUANG, T.; GAO, B.; CHEN, W-L.; XIANG, R.; YUAN M-G, XU Z-H.; PENG, X-Y. Temporal Effects of High Fishmeal Diet on Gut Microbiota and Immune Response in *Clostridium perfringens*-Challenged Chickens. **Frontiers in Microbiology**, v.9, n.2754, 2018.

HUSTÁ, M.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F.; GOOSSENS, E. A. Rapid and Simple Assay Correlates *In Vitro* NetB Activity with *Clostridium perfringens* Pathogenicity in Chickens. **Microorganisms**, v.9, n.1708, 2021.

IERARDI, E.; LOSURDO, G.; IANNONE, A.; PISCITELLI, D.; AMORUSO, A.; BARONE, M.; PRINCIPI, M.; PISANI, A.; DI LEO, A. Lymphocytic duodenitis or microscopic enteritis and gluten-related conditions: what needs to be explored?.**Annals of Gastroenterology**, v.30, pág.380-392, 2017.

IMMERSEEL, F. V.; LHYS, U.; PEDERSEN, K.; PRESCOTT, J. F. Recent breakthroughs have unveiled the many knowledge gaps in *Clostridium perfringens* associated necrotic enteritis in chickens: the first International Conference on Necrotic Enteritis in Poultry. **Avian Pathology***,* v. 45, n. 3, p. 269–270, 2016.

IMMERSEEL, F.V.; BUCK, J.D.B.; PASMANS, F.; HUYGHEBAERT, G.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. **Avian Pathology**, v.33, n.6, 537-p.549, 2004.

IMMERSEEL, F. V.; ROOD, J. I.; MOORE, R. J.; TITBALL, R. W. Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. *Trends in Microbiology*, v.17, n.01, p. 32-36, 2008.

INAGAKI-OHARA, K.; DEWI, F.N.; HISAEDA, H.; SMITH, A.L.; JIMI, F.; MIYAHIRA, M.; ABDEL-ALEEM, A.S.F.; HORII, Y.; NAWA, Y. Intestinal Intraepithelial Lymphocytes Sustain the Epithelial Barrier Function against *Eimeria vermiformis* Infection. **Infection and Immunity**, v.74, n.9, pág.5292-5301, 2006.

JOHANSSON, M.E.V.; PHILLIPSON, M.; PETERSSON, J.; VELCICH, A.; HOLM, L.; HANSSON, G.C. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. **PNAS** v.105, n.39, pág.15064-15069, 2008.

KAER, L.V.; OLIVARES-VILLAGOMEZ, D. Development, homeostasis, and functions of intestinal intraepithelial lymphocytes. **Journal of Immunology**, v.200, n.7, pág.2235–2244, 2018.

KALDHUSDALA, M.; BENESTADA, S.L.; LØVLANDB, A. Review: Epidemiologic aspects of necrotic enteritis in broiler chickens - disease occurrence and production performance. **Avian Pathology**, vol.45, n.3, pág.271-274, 2016.

KEYBURN, A.L.; SHEEDY, S.A.; FORD, M.E.; WILLIAMSON, M.M.; AWAD, M.M.; ROOD, J.I.; MOORE, R.J. Alpha-Toxin of Clostridium perfringens Is Not an Essential Virulence Factor in Necrotic Enteritis in Chickens, **Infection and Immunity**, v.74, n.11, pág. 6496–6500, 2006.

KEYBURN, A.L.; YAN, X.X.; BANNAM, T.L.; VAN IMMERSEEL, F.ROOD, J.I.; MOORE, R.J. Association between avian necrotic enteritis and Clostridium perfringens strains expressing NetB toxin. *Veterinary Research*, v.41, n.21, 2010.

KIU, R.; BROWN, J.; BEDWELL, H.; LECLAIRE, C.; CAIM, S.; PICKARD, D.; DOUGAN, G.; DIXON, R.A.; HALL, L.J. Genomic analysis on broiler-associated *Clostridium perfringens* strains and exploratory caecal microbiome investigation reveals key factors linked to poultry necrotic enteritis*.* **Animal Microbiome**, v.1, n.12, 2019.

KIU, R.; HALL, L.J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. **Emerging Microbes and Infection***,* v.7, n.141, 2018.

KRENTZ, T.; ALLEN, S. REVIEW Bacterial translocation in critical illness. **Journal of Small Animal Practice,** v.58, n.4, 2017.

KUMAR, A.; TOGHYANI, M.; KHERAVII, S.K.; PINEDA, L.; HAN, Y.; SWICK, R.A.; WU, S.B.Potential of blended organic acids to improve performance and health of broilers infected with necrotic enteritis. **Animal Nutrition**, v.7, pág.440-449, 2021.

KUMAR, A.; TOGHYANI, M.; KHERAVII, S.K.; PINEDA, L.; YANMING HAN, Y.; SWICK, R.A.; WU, S-B. Organic acid blends improve intestinal integrity, modulate short-chain fatty acids profiles and alter microbiota of broilers under necrotic enteritis challenge. **Animal Nutrition**, v.8, 82-90, 2022.

LACEY, J.A.; JOHANESEN, P.A.; LYRAS, D.; MOORE, R.J. Genomic diversity of necrotic enteritis-associated strains of *Clostridium perfringens*: a review, **Avian Pathology**, v.45, n.3, pág.302-307, 2016.

LACEY, J.A.; STANLEY, D.; KEYBURN, A.L.; FORDB, M.; CHENB, H.; JOHANESENA, P.; LYRASA, D.; MOOREA, R.J. Clostridium perfringens-mediated necrotic enteritis is not influenced by the pre-existing microbiota but is promoted by large changes in the postchallenge microbiota. **Veterinary Microbiology**, v.227, 119-126, 2018.

LATORRE, J.D.; ADHIKARI, B.; PARK, S.H.; TEAGUE, K.D.; GRAHAM, L.E.;MAHAFFEY, B.D.; BAXTER, M.F.A.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; KWON, Y.M.; RICKE, S.C.; BIELKE, L.R.; HARGIS, B.M.; TELLEZ, G. Evaluation of the Epithelial Barrier Function and Ileal Microbiome in an Established Necrotic Enteritis Challenge Model in Broiler Chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, v.5, n.199, 2018.

LATORRE, J.D.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; KUTTAPPAN, V.A.; WOLFENDEN, R.E.; VICENTE, J.L.; WOLFENDEN, A.D.; BIELKE, L.R.; PRADO-REBOLLEDO, O.F.; MORALES, E.; HARGIS, B.M.; TELLEZ, G. Selection of Bacillus spp. for cellulase and xylanase production as direct-fed microbials to reduce digesta viscosity and *Clostridium perfringens* proliferation using an in vitro digestive model in different poultry diets. **Journal Frontiers in Veterinary Science**, v.2, n.25, 2015.

LEE, K.W.; LILLEHOJ, H.S.; JEOUNG, W.; JEOUNG, H.Y.; AN, D.J. Avian necrotic enteritis: experimental models, host immunity, pathogenesis, risk factors, and vaccine development. **Poultry Science**, v.90, pág.1381-1390, 2011.

LEE, K-W.; KIM, W.H.; LI, C.; LILLEHOJ, H.S. Detection of Necrotic Enteritis B–like Toxin Secreted by *Clostridium perfringens* Using Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Avian Diseases**, v.64, pág.490-495, 2020.

LEPP, D.; ROXAS, B.; PARREIRA, V.R.; MARRI, P.R.; ROSEY, E.L.; GONG, J.; SONGER, J.G.; VEDANTAM, G.; PRESCOTT, J.F. Identification of Novel Pathogenicity Loci in *Clostridium perfringens* Strains That Cause Avian Necrotic Enteritis. **PLoS ONE**, v.5, n.5, 2010.

LI, J.; UZAL, F.A.; MCCLANE, B.A. Clostridium perfringens sialidases: Potential contributors to intestinal pathogenesis and therapeutic targets. *Toxins***,** v.8, n.341, 2016.

LIAN, J.; WANG, Z.; XU, Z.; PANG, Y.; LENG, M.; TANG, S.; XINHENG ZHANG, X.; QIN, J.; CHEN, F.; LIN, W. Pathogenicity and molecular characterization of infectious bursal disease vírus in China. **Poultry Science**, v.101, n.101502, 2022.

LIU, D.; GUO, Y.; WANG, Z.; YUAN, J. Exogenous lysozyme influences *Clostridium perfringens* colonization and intestinal barrier function in broiler chickens, **Avian Pathology**, v.39, n.1, pág.17-24, 2010.

LU, M.; YUAN, B.; YAN, X.; SUN, Z.;, LILLEHOJ, H.S.; YOUNGSUB LEE, Y.; CALDER BALDWIN-BOTT, C.; LI, C. Clostridium perfringens-Induced Host-Pathogen Transcriptional Changes in the Small Intestine of Broiler Chickens. **Pathogens**, v.10, 2021.

MAHAFFEY, B.D.; BAXTER, M.F.A.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; KWON, Y.M.; RICKE, S.C.; BIELKE, L.R.; HARGIS, B.M.; TELLEZ, G. Evaluation of the Epithelial Barrier Function and Ileal Microbiome in an Established Necrotic Enteritis Challenge Model in Broiler Chickens. **Frontiers in Veterinary Science**, v.5, n.199, 2018.

MCREYNOLDS, J.L.; BYRD, J.A.; ANDERSON, R.C.; MOORE, R.W.; EDRINGTON, T.S.; GENOVESE, K.J.; POOLE, T.L.; KUBENA, L.F.; NISBET, D.J. Evaluation of Immunosuppressants and Dietary Mechanisms in an Experimental Disease Model for Necrotic Enteritis. **Poultry Science,** v.83, pág.1948-1952, 2004.

MOHIUDDIN, M.; YUAN, W.; SONG, Z.; LIAO, S.; QI, N.; LI, J.; LV, M.; WU, C.; LIN, X.; HU, J.; CAI, H.; SUN, M. Experimental induction of necrotic enteritis with or without predisposing factors using *netB* positive *Clostridium perfringens* strains. **Gut Pathogens**, v.13, n.68, 2021.

MOORE, R.J. Necrotic enteritis predisposing factors in broiler chickens, **Avian Pathology**, v.45, n.3, pág.275-281, 2016.

bM'SADEQ, S.A.; WU, S-B.; CHOCT, M.; FORDER, R.; SWICK, R.A. Use of yeast cell wall extract as a tool to reduce the impact of necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**, v.94, pág.898-905, 2015.

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**, v.1, pág.1-11, 2015.

NAGAHAMA, M.; OCHI, S.; ODA, M.; MIYAMOTO, K.; MASAYA TAKEHARA, M.; KOBAYASHI, K. Recent insights into Clostridium perfringens beta toxin. *Toxins*, v.7, n.2, pág.396-406, 2015.

NAVARRO, M.A.; MCCLANE, B.A.; UZAL, F.A. Mechanisms of action and cell death associated with *Clostridium perfringens* toxins. *Toxins*, v.10, n.5, 2018.

NEVEL, C.J.V.; DECUYPERE, J.A.; DIERICK, N.A.; MOLLY, K. Incorporation of galactomannans in the diet of newly weaned piglets: effect on bacteriological and some morphological characteristics of the small intestine. **Archives of Animal Nutrition**, 59, 123-138, 2005.

OLKOWSKI, A.A.; WOJNAROWICZ, C.; CHINIO-TREJO, M.; DREW, M.D. Responses of broiler chickens orally challenged with Clostridium perfringens isolated from field cases of necrotic enteritis. **Research in Veterinary Science**, v.81, 2006

PALLIYEGURU, M.W.C.D.; ROSE, S.P. Sub-clinical necrotic enteritis: its aetiology and predisposing factors in commercial broiler production. **Journal World's Poultry Science**, v.70, n.80, pág.3-16, 2019.

PARENT, E.; ARCHAMBAULT, M.; CHARLEBOIS, A.; BERNIER-LACHANCE, J.; MARTINE BOULIANNE, M. A chicken intestinal ligated loop model to study the virulence of *Clostridium perfringens* isolates recovered from antibiotic-free chicken flocks. **Avian Pathology**, v.46, n.2, 138-149, 2017.

PARK, Y.; MOON, S.-J.; LEE, S.-W. Lineage re-commitment of CD4CD8αα intraepithelial lymphocytes in the gut. **BMB Reports**, v. 49, n. 1, p. 11, jan. 2016.

PRESCOTT, J.F.; SIVENDRA, R.; BARNUM, D.A. The use of bacitracin in the prevention and treatment of experimentally-induced necrotic enteritis in the chicken. **Canadian Veterinary Journal**, v.19, 1978.

aPRESCOTT, J.F.; PARREIRA, V.R.; GOHARI, I.M.; LEPP, D. GONG, J. 2016. The pathogenesis of necrotic enteritis in chickens: what we know and what we need to know: a review. **Avian Pathology**, v.45, pág.288-294, 2016.

PRESCOTT, J.F.; SMYTH, J.A.; SHOJADOOST, B.; VINCE, A. Experimental reproduction of necrotic enteritis in chickens: A review. **Avian Pathology**, v.45, n.3, pág.317-322, 2016.

REDONDO, L.M.; REDONDO, E.A.; DELGADO, F.; SALA, L.F.; MIYAKAWA, M.E.F.An Experimental Reproduction of Necrotic Enteritis in Broiler Chickens. **Journal of Veterinary Science & Medicine,** v.4, n.1, 2016.

REVITT-MILLS, S.A.; VIDOR, C.J.; WATTS, T.D.; LYRAS, D.; ROOD, J.I.; ADAMS, V. Virulence plasmids of the pathogenic clostridia. **Microbiol Spectrum**, v.7, n.3, 2018.

ROOD, J.I.; ADAMS, V.; LACEY, J.; LYRAS, D.; MCCLANE, B.A.; MELVILLE, S.B.; MOORE, R.J.; POPOFF, M.R.; SARKER, M.R.; SONGER, J.G.; UZAL, F.A.; IMMERSEEL, F.V. Expansion of the Clostridium perfringens toxin-based typing scheme. **Anaerobe**, v.53, p.5-10, 2018.

ROSE, M.E.; HESKETH, P.; OGILVIE, B.M. Peripheral blood leucocyte response to coccidial infection: a comparison of the response m rats and chickens and its correlation with resistance to reinfection. **Immunology**, v.36, n.71, 1979.

RUHNKE, I.; ANDRONICOS, N.M.; SWICK, R.A.; HINE, B.; SHARMA, N.; KHERAVII, S.K.; WU, S-B.; HUNT, P. Immune responses following experimental infection with *Ascaridia galli* and necrotic enteritis in broiler chickens, **Avian Pathology**, v.46, n.6, pág.602-609, 2017.

SAITOH, Y.; SUZUKI, H.; TANI, K.; NISHIKAWA, K.; IRIE, K.; OGURA, Y.; TAMURA, A.; TSUKITA, S.; FUJIYOSHI, Y. Structural insight into tight junction disassembly by *Clostridium perfringens* enterotoxin. **SCIENCE,** v.347, n.6223, pág.775-778, 2015.

SANCHES, A.W.D.; BELOTE, B.L.; HÜMMELGEN, P.; HEEMANN, A.C.W.; SOARES, I.; TUJIMOTO-SILVA, A.; TIRADO, A.G.C.; CUNHA, A.F.; SANTIN, E. Basal and Infectious Enteritis in Broilers Under the I See Inside Methodology: A Chronological Evaluation. **Frontiers in Veterinary Science**, v.6, n.512, 2020.

SAVVA, C.G.; FERNANDES DA COSTA, S.P.; BOKORI-BROWN, M.; NAYLOR, C.E.; COLE, A.R.; MOSS, D.S.; TITBALL, R.W.; BASAK, A.K. Molecular architecture and functional analysis of NetB, pore-forming toxin from *Clostridium perfringens.* **Journal of Biological Chemistry**, v.288, pág.3512-3522, 2013.

SESTI, L. Biosseguridade em granjas de frangos de corte: conceitos e princípios gerais. V SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA Chapecó**,** *Anais* Chapecó: Núcleo Oeste de médicos veterinários**,** pág.55-72, 2004.

SILVA, R.O.S.; OLIVEIRA JUNIOR, C.A.; GUEDES, R.M.C.; LOBATO, F.C.F. *Clostridium perfringens:* a review of the disease in pigs, horses and broiler chickens. **Ciência Rural,** v.45, n.6, p.1027-1034, 2015.

SOUZA, M.; BAPTISTA, A.A.S.; VALDIVIEZO, M.J.J.; JUSTINO, L.; MENCK-COSTA, M.F.; FERRAZ, C.R.; GLORIA, E.M.; VERRI JR, W.A.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. *Lactobacillus* spp. reduces morphological changes and oxidative stress induced by deoxynivalenol on the intestine and liver of broilers. **Toxicon**, v.185, pág.203-212, 2020.

SOUZA, M.; CICERO, C.E.; MENCK-COSTA, M.F.; JUSTINO, L.; GEREZ, J.R.; BAPTISTA, A.A.S.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. Histological evaluation of the intestine of broiler chickens: comparison of three sampling methods. **Semina**, v.42, n.6, p.3247-3258, 2021.

SHINI, S.; ALAND, C.R.; BRYDEN, W.L. Avian intestinal ultrastructure changes provide insight into the pathogenesis of enteric diseases and probiotic mode of action. **Nature research**, v.11, n.167, 2021.

SHOJADOOST, B.; VINCE, A.R.; PRESCOTT, J.F. The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by Clostridium perfringens: a critical review. **Veterinary Research**, v.43, n.74, 2012.

SHRESTHA, A.; UZAL, F.A.; MCCLANE, B.A. The interaction of *Clostridium perfringens* enterotoxin with receptor claudins, **Anaerobe**, v.41, pág.18-26, 2016.

SMITH, J. A. Broiler Production Without Antibiotics: United States Field Perspectives, *Animal Feed Science and Technology*, p.1-18, 2018.

SMYTH, J.A.; MARTIN, T.G. Disease producing capability of netB positive isolates of *C. Perfringens* recovered from normal chickens and a cow, and netB positive and negative isolates from chickens with necrotic enteritis. **Veterinary Microbiology**, v.146, pág.76-84, 2010.

SMYTH, J.A. Pathology and diagnosis of necrotic enteritis: is it clearcut?. **Avian Pathology**, v.45, n.3, pág.282-287, 2016.

STANLEY, D.; KEYBURN, A.L.; DENMAN, S.E.; MOORE, R.J. Alterações na microflora cecal de galinhas após desafio com *Clostridium perfringens* para induzir enterite necrótica. **Veterinary Microbiology**, v.159, pág.155-162, 2012.

STANLEY, D.; WU, S-B.; RODGERS, N.; SWICK, R.A.; MOORE, R.J. Differential Responses of Cecal Microbiota to Fishmeal, *Eimeria* and *Clostridium perfringens* in a Necrotic Enteritis Challenge Model in Chickens. **PLoS ONE**, v. 9, n.8, 2014.

TEIRLYNCK, E.; GUSSEM, M. D. E.; DEWULF, J.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Morphometric evaluation of “dysbacteriosis” in broilers. **Avian Pathology***,* v. 40, n. 2, p. 139-144, 2011.

TIMBERMONT, L.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F.V. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. **Avian Pathology**, v.40, n.4, p.341-347, 2011.

TERCIOLO, C., BRACARENSE, A.P., SOUTO, P.C.M.C., COSSALTER, A.M., DOPAVOGUI, L., LOISEAU, N., OLIVEIRA, C.A.F., PINTON, P., OSWALD, I.P., 2019. ZACHARY, J. F. Mechanisms of Microbial Infections. In: **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 132-241.e1.

TRUSCOTT, R.B.; AL-SHEIKHLY, F. Reproduction and treatment of necrotic enteritis in broilers. **American Journal of Veterinary Research**, v.38, pág.857-861, 1977.

TSIOURIS, V. Poultry management: a useful tool for the control of necrotic enteritis in poultry, **Avian Pathology**, vol.45, n.3, pág.323-325, 2016.

VAN DAMME, L.; COX, N.; CALLENS, C.; HAESEBROUCK, F.; DARGATZ, M.; DUCATELLE, R.; Van Immerseel, F.; Goossens, E. *C. perfringens* challenge reduces matrix metalloproteinase activity in the jejunal mucosa of Eimeria-infected broiler chickens. **Veterinary Research**, v.51, n.100, 2020.

WADE, B.; KEYBURN, A. The true cost of necrotic enteritis. **World Poultry**, v.31, pág.16-17, 2015. Disponivel em: https://www.poultryworld.net/Meat/Articles/2015/10/The-true-cost-of-necrotic-enteritis-2699819W/

WAEYENBERGHE, L.V.; GUSSEM, M.D.; VERBEKE, J.; DEWAELE, I.; GUSSEM, J.D. Timing of predisposing factors is important in necrotic enteritis models, **Avian Pathology**, v.45, n.3, pág.370-375, 2016.

WILLIAMS, R.B.; MARSHALL, R.N.; LA RAGIONE, R.M.; J. CATCHPOLE, J. A new method for the experimental production of necrotic enteritis and its use for studies on the relationships between necrotic enteritis, coccidiosis and anticoccidial vaccination of chickens. *Parasitology research*, v.90, pág.19-26, 2003.

WILSON, K.M.; CHASSER, K.M.; DUFF, A.F.; BRIGGS,W.N.; J. D. LATORRE, J.D.; J. R. BARTA, J.R.; BIELKE, L.R. Comparison of multiple methods for induction of necrotic enteritis in broilers. **Journal of Applied Poultry Research,** v.27, pág.577-589, 2018.

YANG, Q.; LIU, J.; WANG, X.; ROBINSON, K.; WHITMORE, M.A.; STEWART, S.N.; ZHAO, J.;ZHANG, G. Identification of an Intestinal Microbiota Signature Associated With the Severity of Necrotic Enteritis. **Frontiers in Microbiology**, v.12, 2021.

YANG, W.Y.; CHOU, C.H.; WANG, C. Characterization of toxin genes and quantitative analysis of netB in necrotic enteritis (NE)-producing and non-NE-producing Clostridium perfringens isolated from chickens. **Anaerobe**, v.54, pág.115-120, 2018.

YEGANI, M.; KORVER, D.R. Review Factors Affecting Intestinal Health in Poultry. **Poultry Science**, v.87, 2052-2063, 2008.

ZACHARY, J. F. Mechanisms of Microbial Infections. In: **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 132-241.e1.

ZAHOOR, I.; GHAYAS, A.; BASHEER, A. Genetics and genomics of susceptibility and immune response to necrotic enteritis in chicken: a review. **Molecular Biology Reports**, vol.45, pág.31-37, 2018.

ZAYTSOFF, S.J.M.; LYONS, S.M.; GARNER, A.M.; UWIERA, R.R.E.; ZANDBERG, W.F.; ABBOTT, D.W.; INGLIS, G.D. Host responses to Clostridium perfringens challenge in a chicken model of chronic stress, **Gut Pathogens**, v.12, n.24, 2020.

ZHOU, H.; LEPP, D.; PEI, Y.; LIU, M.; YIN, X.; MA, R.; PRESCOTT, J.F.; GONG, J. Influence of pCP1NetB ancillary genes on the virulence of *Clostridium perfringens* poultry necrotic enteritis strain CP1. **Gut Pathogens**, v.9, n.6, 2017.

ZHOU, C.; QIU, Y.; YANG, H. CD4CD8αα IELs: They Have Something to Say. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019.