

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 13/06/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO, β -MANANASE E
ANTIBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE
INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR
Eimeria maxima E *Clostridium perfringens*

Larissa Pereira Maria

Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO, B-MANANASE E
ANTIBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE
INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR
Eimeria máxima E *Clostridium perfringens***

Discente: Larissa Pereira Maria

**Orientadora: Profa. Dra. Nilva Kazue
Sakomura**

**Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal**

2023

M332e Maria, Larissa Pereira

Efeito do uso de probiótico, B-mananase e antibiótico sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos de corte desafiados por *Eimeria maxima* e *Clostridium perfringens* / Larissa Pereira Maria. -- Jaboticabal, 2023

74 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Nilva Kazue Sakomura

1. Aves domésticas alimentação e rações. 2. Aves criação. 3. Coccidiose. 4. Enterite. 5. Mucosa intestinal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Uma das dificuldades da cadeia produtiva de frangos de corte, é controlar as doenças entéricas presentes na criação. A coccidiose e a enterite necrótica são consideradas enfermidades globais que atingem a produção de aves e geram perdas econômicas significativas para o setor.

Portanto o uso de cepas probióticas vem ganhando força com a proibição de vários países sobre o uso desenfreado de antimicrobianos melhoradores de desempenho em dietas para frangos, principalmente por um mercado consumidor cada vez mais exigente, que impõe padrões ao sistema produtivo a para obter características desejadas da carne e isentas de possibilidades de infortúnios à saúde humana. Por outro lado, o uso de enzimas como a β -mananase também surge para minimizar as perdas geradas pela coccidiose avícola, e o estudo da sua atuação deve ser analisada quanto para a saúde intestinal das aves e desempenho zootécnico.

Deste modo, compreender os benefícios da utilização desses compostos, gerará uma maior assertividade no enfrentamento das adversidades do setor produtivo, estabelecendo maiores ganhos produtivos no setor.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

One of the difficulties in the broiler production chain is controlling enteric diseases present in breeding. Coccidiosis and necrotic enteritis are considered global diseases that affect poultry production and generate significant economic losses for the sector.

Therefore, the use of probiotic strains has been gaining strength with the ban in several countries on the rampant use of performance-enhancing antimicrobials in chicken diets, mainly due to an increasingly demanding consumer market, which imposes standards on the production system to obtain desired characteristics of the flesh and free from the possibility of misfortunes to human health. On the other hand, the use of enzymes such as β -mannanase also appears to minimize the losses generated by poultry coccidiosis, and the study of their action must be analyzed about the birds' intestinal health and zootechnical performance.

Therefore, understanding the benefits of using these compounds will generate greater assertiveness in facing adversities in the production sector, establishing greater productive gains in the sector.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

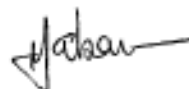
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO, -MANANASE E ANTIBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR *Eimeria maxima* E *Clostridium perfringens*

AUTORA: LARISSA PEREIRA MARIA

ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA (Participação Presencial)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal



Pesquisador Dr. MARCOS KIPPER DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Nutrição e Saúde de Aves / Elanco Animal Health Incorporated Company - São Paulo/SP

Pesquisadora Dra. LETÍCIA SOARES (Participação Virtual)
Departamento de Aves e Suínos / Natural Resources Institute Finland/ LUKE - Jokioinen/Finlândia/UE



Jaboticabal, 13 de dezembro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Larissa Pereira Maria, nascida no dia 28 de agosto de 1998 em Bebedouro – SP, Brasil, filha de Ligia Maria Pereira e Leonardo Rodrigo Maria. Zootecnista pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de ciências agrárias e veterinárias, campus Jaboticabal, São Paulo – título obtido em junho de 2022. Durante a graduação foi bolsista do Programa de Educação Tutorial durante 2 anos e meio, realizou monitoria em disciplina do curso de zootecnia – Avicultura (2021). Realizou treinamento técnico no Laboratório de Ciências Avícolas- Lavinesp, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura (2020/2021), no qual defendeu seu trabalho de conclusão de curso -TCC. Realizou seu estágio final de graduação (2º/2021) na empresa Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia, Santa Catarina. Iniciou o curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal em janeiro de 2022 da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus Jaboticabal sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Nilva Kazue Sakomura, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso” - John Ruskin

A minha tão amada família,

A vocês, dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por estar sempre comigo e me conceder o maior de todos os bens: a vida!

A minha família, o bem mais tocável e precioso que possuímos em vida terrestre.

A minha mãe, Ligia, exemplo de mulher, forte e batalhadora. Que esteve ao meu lado nessa caminhada árdua, mas cheia de bons frutos.

A minha irmã, Louise, que foi minha inspiração e paz, ao lidar com as adversidades do caminho. Minha luz!

Ao meu namorado, Nicolas, o meu companheiro que esteve comigo incansavelmente em todos os meus passos, apoiando firmemente minha trajetória.

Ao meu pai, Leonardo, que me apoiou em todas as escolhas da minha vida, e sempre torceu para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus avós, que tenho o privilégio de tê-los em minha vida ainda, e que permaneceram comigo nesse processo, Maria Santa, Maria do Carmo, Cícero e Nivaldo.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Nilva Kazue Sakomura, pela oportunidade de vivenciar o mundo acadêmico e a pesquisa. Por todos os desafios e tarefas impostas a mim, onde estás me agregaram em inúmeros aspectos da minha carreira profissional e pessoal. Deixo aqui minha gratidão!

Aos meus amigos e companheiros do Lavinesp, pela caminhada e ajuda nesse período, por todo aprendizado adquirido juntos, e pela grande troca de experiências.

Em especial a minha amiga, companheira de casa, e de mestrado, Bárbara Marçal, por cada instante que esteve comigo, cada palavra amiga, cada gesto de amizade. Obrigada por sempre permanecer!

A Elanco Animal Health Incorporated, pelo apoio financeiro ao estudo, ao Marcos Kipper da Silva pelo apoio técnico durante a condução do estudo.

Aos membros da minha banca de defesa, Dr. Marcos Kipper e Dra. Letícia Soares muito obrigada pela contribuição, com certeza ajudaram a enriquecer minha dissertação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) pelo apoio concessão da bolsa de estudos: 88887.662245/2022-00.

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

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, pela estrutura e acolhimento, sendo minha segunda casa nesses dois anos.

E a todas as pessoas que pude conviver e conhecer, obrigada a cada um que de forma direta ou indiretamente contribuiu para esse trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	6
1.1. Introdução	6
1.2. Desafio sanitário na cadeia avícola.....	8
1.3. Enterite necrótica	9
1.4. Microbiologia do trato gastrointestinal	10
1.5. Aditivos alternativos	11
1.5.1. Antibióticos	12
1.5.2. Probióticos.....	13
1.5.3. β -mananase.....	14
1.6. Referências bibliográficas	15
CAPÍTULO 2- EFFECT OF PROBIOTIC AND B-MANNANASE SUPPLEMENTATION ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE AND INTESTINAL HEALTH OF BROILER CHICKENS CHALLENGED BY <i>EIMERIA MAXIMA</i> AND <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i>.....	25
1. Introduction.....	27
2. Materials and Methods.....	29
2.1. Ethics approval.....	29
2.2. Management and facilities.....	29
2.3. Birds, experimental design, and dietary treatments	29
2.4. Eimeria maxima and Clostridium perfringens challenge protocol.....	32
2.5. Productive performance collection	32
2.6. Oocyst count analysis	33
2.7. Intestinal morphometry.....	33
2.8. Gut microbiota of the cecum	34
2.9. Health Tracking System analysis	35
2.10. Intestinal permeability	35
2.11. Statistical analysis.....	36
3. Results.....	37
3.1. Growth performance.....	37
3.2. Oocyst count	39
3.3. Intestinal morphometry.....	39
3.4. Cecal microbiota diversity	42

3.4.1. Alpha diversity.....	42
3.4.2. Beta Diversity.....	43
3.4.4. Differences in the abundance of taxa.....	46
3.5. HTSi (Health Tracking System).....	50
3.6. Intestinal permeability (FITC-dextran)	50
4. Discussion	51
4.1. Performance Response	51
4.2. Gut health	53
4.2.1. Intestinal morphometry	54
4.2.2. Cecum microbiome	55
4.2.3. HTSi (Health Tracking System)	60
4.2.4. Intestinal permeability (FITC-Dextran)	60
5. Conclusions.....	61
6. References	62
CAPÍTULO 3 – IMPLICAÇÕES	74



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito de aditivos nutricionais sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos de corte desafiados"**, protocolo nº 1061/22, sob a responsabilidade da Profª Drª Nilva Kazue Sakomura, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de junho de 2022.

Vigência do Projeto	01/07/2022 a 05/01/2024
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> / Ross AP 95
Nº de animais	2400
Peso / Idade	40g/ 1 dia
Sexo	Machos
Origem	Incubatório Pluma Agroavícola – Descalvado- SP

Jaboticabal, 15 de junho de 2022.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

EFEITO DO USO DE PROBIÓTICO, B-MANANASE E ANTIBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO E SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS POR *Eimeria máxima* E *Clostridium perfringens*

RESUMO - O uso de antibióticos na cadeia avícola tem sido associado à resistência bacteriana em humanos, levando à proibição ou redução da sua inclusão como promotor de crescimento nas dietas animais. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de probióticos e β -mananase sobre o desempenho de crescimento e saúde intestinal de frangos de corte desafiados por um modelo de *Eimeria maxima* associada a *Clostridium perfringens*. Foram utilizados 2.100 pintos machos de um dia de idade (Ross 308) distribuídos aleatoriamente em seis tratamentos com 10 repetições de 35 aves cada, totalizando 60 unidades experimentais. Os tratamentos foram: T1 – Controle negativo (CN) (sem desafio); T2 - Controle positivo (CP) (desafiado com *E. máxima* e *C. perfringens*); T3 – CP+Antibiótico; T4 - CP+ β -mananase; T5 - CP+probiótico T6 - CP+ β -mananase+probiótico. O protocolo de desafio consistiu na inoculação de *Eimeria maxima* (7×10^3 oocistos/mL) aos 14 dias de idade e inoculação de *Clostridium perfringens* ($2,5 \times 10^6$ UFC) aos 20 dias. O desempenho produtivo na fase de 15 a 28 dias, mostra que houve redução no consumo de ração (CR) e no ganho de peso (GP), exceto no tratamento não desafiado ($P < 0,05$). Aos 29-42 dias as variáveis (PV) peso vivo e CR, as aves do grupo CN apresentaram valores maiores em comparação às aves dos grupos CP e CP+probiótico ($P < 0,05$) e a (CA) conversão alimentar das aves no tratamento CP+antibiótico foi menor em comparação aos grupos CN, CP e CP+probiótico. Diferenças significativas ($P < 0,05$) foram observadas de 1 a 42 dias nas variáveis PC, GP e CR, o tratamento NC apresentou valores maiores em comparação aos grupos CP e CP+probiótico. A relação vilo:cripta no duodeno aumentou no tratamento CP+ β -man+prob, diferindo do tratamento CN, CP e CP+probiótico ($P < 0,05$). A relação *Firmicutes/Bacteroidota* aos 22 dias foi maior nos tratamentos que receberam probiótico ou β -man+prob, quando comparado às aves desafiadas sem qualquer suplementação ($P < 0,05$). Nas aves da família *Lactobacillaceae* houve aumento na sua proporção no microbioma das aves que foram suplementadas com β -mananase ($P < 0,05$). O gênero *Prevotellamassilia* foi mais abundante em aves não desafiadas, desafiadas sem adição de aditivos ou desafiadas recebendo β -mananase dietética em comparação com animais desafiados recebendo antibiótico dietético aos 22 dias de idade ($P < 0,05$). O uso de β -mananase ou probiótico pode ser uma alternativa eficaz na saúde intestinal das aves, pois que gera modulação benéfica na microbiota intestinal e atenua os efeitos do desafio relacionado à melhoria do desempenho produtivo.

Palavras-chave: Aves criação, aves domésticas alimentação e rações, coccidiose, enterite, mucosa intestinal

EFFECT OF THE USE OF PROBIOTICS, B-MANNANASE AND ANTIBIOTICS ON THE PERFORMANCE AND INTESTINAL HEALTH OF BROIL CHICKENS CHALLENGED BY *Eimeria maxima* AND *Clostridium perfringens*

ABSTRACT- The use of antibiotics in the poultry chain has been associated with bacterial resistance in humans, leading to the prohibition or reduction of their inclusion as growth promoters in animal diets. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of probiotics and β -mannanase on the growth performance and intestinal health of broiler chickens challenged by a model of *Eimeria maxima* associated with *Clostridium perfringens*. 2,100 one-day-old male chicks (Ross 308) were used, randomly distributed in six treatments with 10 replications of 35 birds each, totaling 60 experimental units. The treatments were: T1 – Negative control (NC) (no challenge); T2 - Positive control (PC) (challenged with *E. maxima* and *C. perfringens*); T3 – PC+Antibiotic; T4 - PC+ β -mannanase; T5 - PC+probiotic T6 - PC+ β -mannanase+probiotic. The challenge protocol consisted of inoculation of *Eimeria maxima* (7×10^3 oocysts/mL) at 14 days of age and inoculation of *Clostridium perfringens* (2.5×10^6 CFU) at 20 days of age. Productive performance in the 15 to 28-day phase shows that there was a reduction in feed intake (FI) and body weight gain (BWG), except in the unchallenged treatment ($P < 0.05$). At 29-42d days, the variables (BW) live weight and FI, the birds in the CN group showed higher values compared to the birds in the PC and PC+probiotic groups ($P < 0.05$) and the (CA) feed conversion of the birds in the PC+antibiotic treatment it was lower compared to the NC, PC and PC+probiotic groups. Significant differences ($P < 0.05$) were observed from 1 to 42 days in the variables BW, BWG and FI, the NC treatment presented higher values compared to the PC and PC+probiotic groups. The villus:crypt ratio in the duodenum increased in the CP+ β -man+prob treatment, differing from the NC, PC and PC+probiotic treatments ($P < 0.05$). The *Firmicutes/Bacteroidota* ratio at 22 days was higher in treatments that received probiotic or β -man+prob, when compared to birds challenged without any supplementation ($P < 0.05$). In birds of the *Lactobacillaceae* family, there was an increase in its proportion in the microbiome of birds that were supplemented with β -mannanase ($P < 0.05$). The genus *Prevotellamassilia* was more abundant in unchallenged birds, challenged without added additives or challenged receiving dietary β -mannanase compared to animals challenged receiving dietary antibiotics at 22 days of age ($P < 0.05$). The use of β -mannanase or probiotics can be an effective alternative for the intestinal health of birds, as they generate beneficial modulation in the intestinal microbiota and mitigate the effects of the challenge related to improving production performance.

Keywords: Coccidiosis, enteritis, intestinal mucosa, poultry breeding, poultry feed and feed

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1. Introdução

Segundo dados da ABPA (2022), o Brasil atualmente lidera o ranking de maior exportador de carne de frango e é o terceiro maior produtor mundial. Isso ocorre de forma significativa pois a avicultura Brasileira mostra-se como uma grande potência no desenvolvimento de tecnologias, nas áreas de nutrição, sanidade, ambiência e bem-estar animal. Entretanto, a alta intensificação na produção avícola desencadeou o desenvolvimento de processos patológicos, que são ocasionados pela imediata taxa de crescimento e pela alta densidade de criação. Esses aspectos levam a falhas nas respostas fisiológicas ou sistêmicas, tornando os animais vulneráveis a diferentes patógenos, acentuados, principalmente pela baixa resposta do sistema imunológico (Jaenisch et al., 2001; Rubio, 2018).

Conforme a taxa de crescimento e a conversão alimentar melhoram, as aves se tornam mais exigentes, os cuidados com a nutrição e saúde (Choct et al., 1999). Logo, esses aspectos mencionados estão ligados com a saúde intestinal, onde o sistema imunológico está relacionado, assim como o equilíbrio e a integridade intestinal a níveis macro e microestrutural. A saúde do trato gastrointestinal atinge diretamente a digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes, resposta imune e resistência a patógenos (Kelly & Conway; 2001, Yegani & Korver, 2008). As alterações desses processos são propícias a resultar em doenças entéricas (Dekich, 1998).

Um dos exemplos mais comuns de doenças entéricas é a infecção por coccidiose, doença parasitária causada pelo protozoário de gênero *Eimeria*, sendo um dos fatores que desencadeia a enterite necrótica, devido a lesões ocasionadas na mucosa intestinal, que são locais propícios para o desenvolvimento inicial de *Clostridium perfringens* (Ribas, 2020). O contato com a matriz extracelular, que atua como substrato para a bactéria, transborda o soro para o lúmen, que se torna um meio de cultura para o crescimento bacteriano, provocando a formação de muco rico em proteínas que fortalece a multiplicação de *C. perfringens* (Williams, 2005; Moore, 2016).

É relatado que a enterite ocorre em frangos de corte com idade entre duas e seis semanas (Songer, 1996; Cooper et al., 2010), apresentando os sinais clínicos, desidratação, diarreia, penas eriçadas e menor ingestão de alimento (anorexia)

(Songer, 1996; Oliveira, 2019). São descritas duas abordagens da doença, a clínica e subclínica (Kaldhusdal et al., 1992; Songer, 1996; Keyburn et al., 2010). A primeira forma aparece com os sinais citados acima com alta mortalidade dos animais, já a subclínica apresenta um baixo desempenho, que caracteriza em redução da eficiência alimentar e crescimento do animal, mas sem levar a morte. Logo, esse estado da patogenia pode ser diagnosticado pelo aumento da conversão alimentar, através de danos macroscópicos no intestino delgado e pela comunidade bacteriana (Kaldhusdal et al., 1992). Mediante este aspecto, perdas econômicas estão alinhadas a enterite necrótica, relacionado a doença de forma subclínica, inclusive pontua-se também o alto custo que se demanda para combate à doença com antibióticos.

A crescente preocupação em substituir o uso de antibióticos como melhoradores de desempenho por substâncias alternativas, se dá pelo resultado da legislação que se estabeleceu na Europa em 2006 (Castanon, 2007). Assim, tem ocorrido a busca por alternativas aos antibióticos, para manter o desempenho e o equilíbrio da microbiota em frangos de corte (Chowdhury et al., 2009).

Nesse sentido, os probióticos têm apresentado efeitos positivos na saúde animal (Voung et al., 2016), além dos aditivos enzimáticos. Os efeitos benéficos dos probióticos no geral compreendem: preservar a microbiota intestinal por exclusão competitiva e antagonismo; modificando o metabolismo, elevando a atividade de enzimas digestivas e reduzindo a ação de enzimas bacterianas e geração de amônia; aumentar o consumo de ração e melhorar a digestão do alimento; além de e neutralizar as enterotoxinas (Jin et al., 1998a). As várias classes de probióticos como *C. butyricum*, tem expressado potencial para troca aos antibióticos, uma vez que promove a resposta imune, melhora a função da barreira intestinal e a digestão, tanto em modelo experimental em desafio sanitário (Zhang et al, 2016; Hayashi et al., 2018) como utilização na suplementação (Mountzouris et al., 2007; Wu et al., 2018; Manafi et al., 2018), corroborando quase sempre com melhorias no desempenho animal, em especial na conversão alimentar.

Uma alternativa que está sendo implantada nas dietas de frangos desafiados imunologicamente, é a enzima β -mannanase, que pode atuar sobre a reação imunológica dos animais pela redução da geração de imunoglobulinas (Li et al., 2010) e leucócitos (Mehri et al., 2010). Essa reação é em relação aos mananos encontrados

nos ingredientes, que são amplos estimuladores do sistema imune. A atenuação da resposta imunológica e a diminuição da viscosidade pelo aumento desta enzima, possibilita resultados superiores em relação ao desempenho, como o ganho de peso (Daskiran et al., 2004; Kim et al., 2003; Kong et al., 2011) e melhoria da conversão alimentar (Lee et al., 2003; Zou et al., 2006).

Desse modo, no intuito de alcançar resultados mais significativos na produção avícola, a utilização destes produtos na forma associada pode trazer efeitos favoráveis, pois se espera uma potencialização dos efeitos de suas atividades, maior impacto da atuação sobre os microrganismos e, portanto, uma melhora na produtividade dos frangos de corte.

5. Conclusions

The challenge with *E. maxima* and *C. perfringens* reduces feed consumption and weight gain of birds, negatively affecting production performance responses.

However, based on our findings, supplementation with β -mannanase, probiotic or β -mannanase+probiotic can prevent damage to intestinal integrity, modulating intestinal morphometry and the microbiome of the cecum, beneficially impacting the health of the gastrointestinal tract of these birds.

Author Contributions: All authors have read and agreed to the published version of the manuscript. “Conceptualization, L.P.M., N.K.S. and M.K; methodology, L.P.M., N.K.S., M.K. and B.B.L; validation, L.P.M., R.S.C., B.B.L., R.R.L. and B.V.M; formal analysis, L.P.M., B.B.L., R.S.C; resources, L.P.M., R.S.C., B.B.L. and B.V.M; data curation, L.P.M., R.R.L; writing—original draft preparation, L.P.M. and R.R.L; writing—review and editing, L.P.M., R.S.C., B.B.L., R.R.L. and B.V.M; visualization, L.P.M., R.S.C., B.B.L., R.R.L. and B.V.M; supervision, N.K.S. and M.K; project administration, L.P.M., N.K.S. and M.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Elanco Animal Health ®.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Animal Ethics Committee of the Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine of the Universidade Estadual Paulista, Brazil (Protocol nº: 1061/22 - June 15, 2022).

Informed Consent Statement: Not applied.

Data Availability Statement: Data available upon request.

Acknowledgments: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento: 88887.662245/2022-00.

Conflicts of Interest: The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

6. References

1. Fatoba, A. J., & Adeleke, M. A. Diagnosis and control of chicken coccidiosis: a recent update. *J. Parasit. Dis.: official organ of the Indian Society for Parasitology*. **2018** 42, 483–493. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1048-1>.
2. Pham, H. H. S.; Matsubayashi, M., Tsuji, N.; & Hatabu, T. Relationship between *Eimeria tenella* associated-early clinical signs and molecular changes in the intestinal barrier function. *Veterinary immunology and immunopathology*. **2021**, 240, 110321. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2021.110321>.

3. Sharman, P.A.; Smith, N.C.; Wallach, M.G.; Katrib, M. Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. *Parasite Immunol.* **2010**, *32*, 590–598. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2010.01209.x>.
4. Wade, B.; Keyburn, A.L. The True Cost of Necrotic Enteritis. *World Poult.* **2015**, *31*, 6-7.
5. Allen, P.C.; Fetterer, R.H. Recent advances in biology of *Eimeria* species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clin. Microbiol. Rev.* **2002**, *15*, 58–65. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.1.58-65.2002>.
6. DeGruttola, A.K.; Low, D.; Mizoguchi A.; Mizoguchi E. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflamm. Bowel. Dis.* **2016**; *22*:1137-1150. <https://doi:10.1097/MIB.0000000000000750>.
7. Williams, R.B. Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. *Avian pathol.* **2005**, *34*, 159–180. <https://doi.org/10.1080/03079450500112195>.
8. 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. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **2008**, *122*, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.10.014>.
9. Zhou, Z.; Nie, K.; Huang, Q.; Li, K.; Sun, Y.; Zhou, R.; Wang, Z.; Hu, S. Changes of cecal microflora in chickens following *Eimeria tenella* challenge and regulating effect of coated sodium butyrate. *Exp. Parasitol.* **2017**, *177*, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.04.007>.
10. Bortoluzzi, C.; Scapini, L.B; Ribeiro, M.V.; Pivetta, M.R.; Buzim, R.; Fernandes, J.I.M. Effects of β -mannanase supplementation on the intestinal microbiota composition of broiler chickens challenged with a coccidiosis vaccine. *Livest. Sci.* **2019**, *228*, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.001>.
11. Companyó, R.; Granados, M.; Guiteras, J.; Prat, M.D. Antibiotics in food: legislation and validation of analytical methods. *Bioanal. Chem.* **2009**, *395*, 877-891. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2969-4>.
12. Menten, J.F.M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal, Uberlândia, Brasil.
13. Adhikari, P., Kiess A., Adhikari R., Jha R., An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis, *J. Appl. Poult. Res.* **2020**, *29*, 515-534. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2019.11.005>.
14. Furlan, R.L.; Macari, M.; Luquetti, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In Simpósio técnico de incubação, matrizes de corte e nutrição. Balneário Camboriú, Brasil (2004).

15. Pelicia, K.; Mendes, A.A.M.; Saldanha, E.S.P.B.; Pizzolante, C, C; Takahashi, S.E.; Garcia, R.G.; Paz, I.C.L.A.; Quintero, R.R. Utilização de promotores biológicos para frangos de corte tipo colonial. *Ver. Bras. Ciên. Avíc.* **2004**, 6, 21.
16. Hemarajata, P.; Versalovic, J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap. Adv. Gastroenterol.* **2013**;6 :39-51. <https://doi.org/10.1177/1756283X12459294>.
17. Yaqoob, M.U.; Yousaf, M.; Khan, M.I.; Wang, M. Effect of β -Mannanase Supplementation on Growth Performance, Ileal Digestibility, Carcass Traits, Intestinal Morphology, and Meat Quality in Broilers Fed Low-ME Diets. *Animals (Basel)*. **2022**; 12, 1126. <https://doi.org/10.3390/ani12091126>.
18. Choct, M. Enzymes for the feed industry: past, present, and future. *Worlds J. Poult. Sci.* **2006**, 62, 5–16. <https://doi.org/10.1079/WPS200480>.
19. Slominsk, B.A. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. *Poult. Sci.* **2011**, 90, 2013-2023. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01372>.
20. Ferreira Júnior, H.C. Avaliação da β -mannanase em dietas para frangos de corte. Master, Degree-Granting Universidade Federal de Viçosa, feb, 2014.
21. Jackson, M.E.; Anderson, D.M.; Hsiao, H.Y.; Mathis, G.F.; Fodge, D.W. Beneficial Effect of β -Mannanase Feed Enzyme on Performance of Chicks Challenged with *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens*. *Avian Dis.* **2003**, 47, 759-763. <https://doi.org/10.1637/7024>.
22. Latorre, Juan & Hernandez-Velasco, Xochitl & Bielke, Lisa & Vicente-Salvador, Jose & Wolfenden, R & Menconi, Anita & Hargis, B & Tellez, Guillermo. Evaluation of a *Bacillus* direct-fed microbial candidate on digesta viscosity, bacterial translocation, microbiota composition and bone mineralisation in broiler chickens fed on a rye-based diet. *Br. Poult. Sci.*, **2015**, 56. <https://doi.org/10.1080/00071668.2015.1101053>.
23. Caldas, J.V.; Vignale, K.; Boonsinchai, N.; Wang, J.; Putsakum, M.; England, J.A. et al. The effect of β -mannanase on nutrient utilization and blood parameters in chicks fed diets containing soybean meal and guar gum. *Poult Sci.*, **2018**; 97 :2807-2817. <https://doi.org/10.3382/ps/pey099>.
24. Latham, R.E.; Williams MP, Walters HG, Carter B, Lee JT. Efficacy of β -mannanase on broiler growth performance and energy utilization in the presence of increasing dietary galactomannan. *Poult. Sci.*, **2017**; 97: 549-556. <https://doi.org/10.3382/ps/pex309>.
25. Aviagen. *Ross Broiler Pocket Guide: The Pocket Guide*. Aviagen, Huntsville, Alabama, USA, 2018.
26. Rostagno, H.S.; Albino, L.F.H.; Hannas, M.I.; Donzele, J.L.; Sakomura, N.K.; Perazzo, F.G.; Saravia, A.; De abreu, M.L.T.; Rodrigues, P.B.; De Oliveira, R.F.; Barreto, S.L.T.; Brito, C. D. *Tabelas Brasileiras para aves e suínos: Composição de Alimentos e exigências nutricionais*, 3nd ed.; Editor UFV, Viçosa, 2017.

27. Sakomura, N.K.; Rostagno, H.S. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*, 2nd ed.; Editor FUNEP, 2016; pp262.
28. Gordon H.M.L. E Whitlock H.N. A new technique for counting nematode egg in sheep faeces. *J. Sci. Ind. Res*, **1939**, 12, 50-52.
29. Gava, M.S. Metodologia de morfometria intestinal em frangos de corte. Master, Degree-Granting Universidade Federal do Rio Grande do Sul, apr, 2012.
30. Luna, L.G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd ed.; Editor McGraw-Hill, New York. 1968.
31. INNIS, Michael A. Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.; White, T.J. (Ed.). PCR protocols: a guide to methods and applications. *Academic press*, 2012.
32. Degnan, P.H.; Ochman, H. Illumina-based analysis of microbial community diversity. *ISME J.* **2012**, 6, 183–194. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.74>.
33. Caporaso, J.G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J.; Bittinger, K.; Bushman, F.D.; Costello, E.K.; Fierer, N.; Peña, A.G.; Goodrich, J.K.; Gordon, J.I. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods*, **2010**, 7, 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>.
34. Yilmaz, P.; Parfrey, L.W.; Yarza, P.; Gerken, J.; Priesse, E.; Quast, C.; Schweer, T.; Peplies, J.; Ludwig, W.; Glöckner, F.O. The SILVA and “All-species Living Tree Project (LTP)” taxonomic frameworks. *Nucleic Acids Res.* **2014**, 42, 643-648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>.
35. Kasab-bachia H.; Arruda, A.G.; Roberts, T.E.; Wilson, J.B. The use of large databases to inform the development of an intestinal scoring system for the poultry industry. *Prev. Vet. Med.* **2017**, 146, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.07.012>.
36. Vicuña, E.A.; Kuttappan, V.A.; Galarza-seeber, R.; Latorre, J. D.; Faulkner, O. B.; Hargis, B. M.; ... Bielke, L. R. Effect of dexamethasone in feed on intestinal permeability, differential white blood cell counts, and immune organs in broiler chicks. *Poult. Sci.* **2015**, 94, 2075-2080. <https://doi.org/10.3382/ps/pev211>.
37. McMurdie, P.J., Holmes, S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One.*, **2013**, 8, 612-617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
38. Oksanen, J.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'hara, B.; Stevens, M.H.H.; Oksanen, M.J.; Suggests, M. The vegan package. *Commun. Ecol. Packag.* **2007**, 10, 719.
39. Kruskal, W.H.; Wallis, W.A. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *J. Am. Stat. Assoc.* **1952**, 47, 583–621. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>.
40. Dunn, O.J. Multiple Comparisons Using Rank Sums. *Technometrics*, **1964**, 6, 241–252. <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>.

41. Yuan, J.; Johnson, T.A.; Ajuwon, K.M.; Adeola, O. *Eimeria* infection-related intestinal dynamics and microbiome, growth performance, and nutrient utilization in broiler chickens fed diets supplemented with multienzyme. *Can. J. Anim. Sci.* **2022**, *103*, 81-91. <https://doi.org/10.1139/cjas-2022-0046>.
42. Graña, A.L. Use of probiotics in broiler chicken feed. Magister, Concessão de Grau Universidade Federal de Viçosa" Viçosa, February, 2006.
43. De Freitas, L.F.V.B. Impact of coccidiosis challenge and balanced protein levels on the responses of broiler chickens. PhD, Degree-Granting Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, feb, 2023.
44. Kipper, M.; Andretta, I.; Lehnen, C.R.; Lovatto, P.A.; Monteiro, S.G. Meta-analysis of the performance variation in broilers experimentally challenged by *Eimeria* spp. *Vet. Parasitol.* **2013**, *196*, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.013>.
45. Bortoluzzi, C. Desempenho produtivo e microbiota intestinal de frangos de corte suplementados com B-ácidos do lúpulo (*Humulus lupulus*) após desafio com *Eimeria acervulina* e *E. tenella*. Master, Degree-Granting Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, feb, 2013.
46. Teng, P.Y.; Yadav, S.; de Souza Castro, F. L.; Tompkins, Y. H.; Fuller, A. L.; Kim, W. K. Graded *Eimeria* challenge linearly regulated growth performance, dynamic change of gastrointestinal permeability, apparent ileal digestibility, intestinal morphology, and tight junctions of broiler chickens. *Poult. Sci.* **2020**, *99*, 4203-4216. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.04.031>
47. Zou, X.T.; Qiao, X.J.; XU, Z.R. Effects of β -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. *Poult sci.* **2006**, *85*, 2175-2179. <https://doi.org/10.1093/ps/85.12.2176>.
48. Yeo, J.; Kim, K.I. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic or cassava extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poult. Sci.* **1997**, *76*, 2, 381-385. <https://doi.org/10.1093/ps/76.2.381>.
49. Zhang, Z.F.; Zhou, T.X.; Ao, X.; Kim, I.H. Effects of β -glucan and *Bacillus subtilis* on growth performance, blood profiles, relative organ weight and meat quality in broiler chickens fed diets based on corn and soybean meal. *Livest. Sci.* **2012**, *150*, 419-424. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.10.003>.
50. Willis, W. L.; Reid, L. Investigating the effects of probiotic diets on broiler production and the presence of *Campylobacter jejune*. *Poult. Sci.* **2008**, *87*, 606-611. <https://doi.org/10.3382/ps.2006-00458>.
51. Lee, K.W.; Lee, S.H.; Lillehoj, H.S.; Li, G.X.; Jang, S.I.; Badu, U.S.; Park, M.S.; Kim, D.K.; Lillehoj, E.P.; Neurnann, A.P.; Rehberger, T.G.; Siragusa, G.R. Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2010**, *89*, 203-216. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00418>.

52. Berto, Rafaela. Probióticos a base de *Bacillus* em rações de frangos de corte desafiados com *Clostridium perfringens* e *Eimeria vacinal*. Master, Degree-Granting Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, Paraná, mar, 2023.
53. Majidi-Mosleh, A.; Sadeghi, A.A; Mousavi, S.N.; Chamani, M.; Zarei, A. Ileal MUC2 gene expression and microbial population, but not growth performance and immune 23 response, are influenced by in ovo injection of probiotics in broiler chickens. *British Poult. Sci.* **2017**, *58*, 40-45. <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1237766>.
54. Wu, Y.; Shao, Y.; Song, B.; Zhen, W.; Wang, Z.; Guo, Y.; Shahid, M.S.; Nie, W. Effects of *Bacillus coagulans* supplementation on the growth performance and gut health of broiler chickens with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2018**, *9*, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0220-2>.
55. Fuller, R. Nature of the determinant responsible for the adhesion of *Lactobacilli* to chicken crop epithelial cells. *J. Gen. Microbiol.* **1975**, *87*, 245-250. <https://doi.org/10.1099/00221287-87-2-245>.
56. Otutumi, L.K.; Góis, M.B.; Garcia, E.R.M.; Loddi, M.M.. Variations on the efficacy of probiotics in poultry. *Prob. Anim.* **2012**, 203-230. <https://doi.org/10.5772/50058>.
57. Clavijo, V.; Flórez, M.J.V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poult. Sci.* **2018**, *97*, 1006-1021. <https://doi.org/10.3382/ps/pex359>.
58. Singh, A.K., Kim, W.K. Effects of Dietary Fiber on Nutrients Utilization and Gut Health of Poultry: A Review of Challenges and Opportunities. *Animals (Basel)*. **2021**, *11* :181. <https://doi:10.3390/ani11010181>.
59. Song, J.; Xiao, K.; Ke, Y.; Jiao, L.F.; Hu, C.H.; Diao, Q.Y.; Shi, B.; Zhou, X. T. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poult. Sci.* **2014**, *93*, 581–588. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03455>.
60. Kogut, M.H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2019**, *250*, 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.008>.
61. Golder, H.M.; Geier, M.S.; Forder, R.E.A.; Hynd, P.I.; Hughes, R.J. Effects of necrotic enteritis challenge on gut microarchitecture and mucin profile. *Br. Poult. Sci.* **2011**, *52*, 500-506. <https://doi.org/10.1080/00071668.2011.587183>.
62. Viola, E.S.; Vieira, S.L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. *Ver. Bras. Zoot.* **2007**, *36*, 1097-1104.
63. Maiorka, A.; Boleli, I.C.; Macari M. *Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte*. 1RD ED.; Publisher: Funep/Unesp, Jaboticabal, 2002, pp.113-123.

64. Pelicano, E.R.L.; Souza, P.A.; Souza, H.B.A.; Figueiredo, D.F.; Boiago, M.M.; Carvalho, S.R.; Bordon, V.F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Braz. J. Poult. Sci.* **2005**, *7*, 221-229. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2005000400005>.
65. Khan, S.H. Probiotic microorganisms-identification, metabolic and physiological impact on poultry. *Worlds. Poult. Sci. J*, **2013**, *69*, 601–612. <https://doi.org/10.1017/S0043933913000603>.
66. Jeurissen, S.H.M.; Lewis, F.; Klis, J.D.V.; Mroz, Z.; Rebel, J.M.J.; Huurne, A.A.H.M. Parameters and Techniques to Determine Intestinal Health of Poultry as Constituted by Immunity, Integrity, and Functionality. *Current Issues of Intestinal Microbiology*, **2002**, *3*, 1-14.
67. Soares, E.S.R. Efeito continuado de simbiótico em dietas para poedeiras da fase de cria à produção. PhD, Degree-Granting Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2023, pp.134.
68. Chaveerach, P., Keuzenkamp, DA Lipman, LJA e Van Knapen, F. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, intestinal microflora, and histological cellular changes. *Poult. Sci*, **2004**, *83*, 330-334. <https://doi.org/10.1093/ps/83.3.330>.
69. Van immerseel, Filip et al. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion shortly after *Salmonella enteritidis* infection in young chickens. *Poult. Sci*, **2004**, *83*, 69-74. <https://doi.org/10.1093/ps/83.1.69>.
70. Izat, A. L. et al. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on microflora of the intestine and carcass. *Poult. Sci*, **1990**, *69*, 818-826. <https://doi.org/10.3382/ps.0690818>.
71. Chen, H. L., X. Y. Zhao, G. X. Zhao, H. B. Huang, H. R. Li, C. W. Shi, W. T. Yang, Y. L. Jiang, J. Z. Wang, L. P. Ye, Q. Zhao, C. F. Wang, and G. L. Yang. Dissection of the cecal microbial community in chickens after *Eimeria tenella* infection. *Parasit. Vectors*. **2020**, *13*:56. <https://doi.org/10.1093/ps/85.12.2106>.
72. Lin, Y., S. Xu, D. Zeng, X. Ni, M. Zhou, Y. Zeng, H. Wang, Y. Zhou, H. Zhu, K. Pan, and G. Li. Disruption in the cecal microbiota of chickens challenged with *Clostridium perfringens* and other factors was alleviated by *Bacillus licheniformis* supplementation. *PLoS One*, **2018**, *12*:1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182426>.
73. Hume, EU; Clemente-Hernández, Sergio; Oviedo-rondón, EO. Effects of feed additives and *Eimeria* mixed species infection on the intestinal microbial ecology of broiler chickens. *Poult. Sci*, **2006**, *85*, 2106-2111. <https://doi.org/10.1093/ps/85.12.2106>.
74. Oviedo-Rondón, E.O. M.E. Hume, M.E. C. Hernández, C. S. Clemente-Hernández, Intestinal Microbial Ecology of Broilers Vaccinated and Challenged With Mixed *Eimeria* Species, and Supplemented with Essential Oil Blends, *Poult. Sci*, *85*, **2006**, 854-860, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.1093/ps/85.5.854>.

75. Stanley, D., Hughes, R.J., Moore, R.J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity, and disease. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, **2014**, 98, 4301–4310. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5646-2>.
76. Feye, K.M.; Baxter, M.F.A.; Tellez-isaias, G.; Kogut, M.H.; Ricke, S.C. Influential factors on the composition of the conventionally raised broiler gastrointestinal microbiomes. *Poult. Sci*, **2020**, 99, 653-659. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.013>.
77. Lozupone CA, Knight R. Global patterns in bacterial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2007**, 104: 11436–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611525104>.
78. Derami, Mariana Silveira. Comparação entre o microbioma do trato respiratório de aves saudáveis e aves diagnosticadas com colibacilose/ Mestre- Mariana Silveira Derami- Universidade Estadual de Campinas- Campinas, SP: [s.n], **2019**.
79. Blaut, M., & Clavel, T. Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *J. Nutr*, **2007**, 137, 751S–5S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.751S>.
80. Zhang ZF., Kim IH. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood traits, cecal microbial excretion and excreted odor content in broiler chickens. *Poult. Sci*, **2014**, 93, 364 – 370. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03314>.
81. Pedroso, A. A., Batal, A. B., & Lee, M. D. Effect of in ovo administration of an adult-derived microbiota on establishment of the intestinal microbiome in chickens. *Am. J. Vet. Res.*, **2016**, 77, 514–526. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.5.514>.
82. Pender, CM., Kim S., Potter TD, Ritszi MM, Young M, Dalloul, RA. Efeitos da suplementação in ovo de probióticos sobre o desempenho e imuno competência de frangos de corte ao desafio de *Eimeria*. *Benef. Microbes*, **2016a** 7, 699 – 705. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0080>.
83. Scapini, Lidiane Boareto. Suplementação de β -mannanase em dietas para frangos de corte criados em condições experimentais e comerciais, **2015**. Universidade Estadual do Paraná, Palotina. Dissertação de mestrado. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/1884/41318> >, 2023.
84. Martiny JBH, Eisen JA, Penn K, Allison SD, Horner-Devine MC. Os drivers da beta-diversidade bacteriana dependem da escala espacial. *Proc. Natl. Acad. Sci. US A*, **2011**, 108:7850–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016308108>.
85. Cisek, A. A.; Binek, Marian. Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria. *Pol. J. Vet. Sci.*, **2014**, 17, 2. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0057>.
86. Ducatelle, R., Eeckhaut, V., Haesebrouck F., Van Immerseel., F. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. *Animal*, **2015**, 9, 43-48, ISSN 1751-7311, <https://doi.org/10.1017/S1751731114002584>.

87. Singh, P.; Karimi, A.; Devendra, K.; Waldroup, P.W.; Cho, K.K.; Kwon, Y.M. Influence of penicillin on microbial diversity of the cecal microbiota in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2013**, *92*, 272-276. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02603>.
88. Salaheen, S.; Kim, S.W.; Haley, B.J.; Van kessel, J.A.S.; Biswas, D. Alternative Growth Promoters Modulate Broiler Gut Microbiome and Enhance Body Weight Gain. *Front. Microbiol.* **2017**, *26*, 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02088>.
89. Hong, Y.; Cheng, Y.; Li, Y.; Li, X.; Zhou, Z.; Shi, D.; Li, Z.; Xiao, Y. Preliminary Study on the Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* TL on Cecal Bacterial Community Structure of Broiler Chickens. *Biomed Res. Int.* **2019**, 1-11. DOI: 10.1155/2019/5431354.
90. Wielen, P. W. J. J., Keuzenkamp, D. A., Lipman, L. V., Knapen, F., & Biesterveld, S. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. *Microbial ecology*, **2002**, *44*, 286-293. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-2015-y>.
91. Callaway, T.R.; Dowd, S.E.; Wolcott, R.D.; Sun, Y.; McReynolds, J.L.; Edrington, T.S.; BYRD, J.A.; Anderson, R.C.; Krueger, N.; Nisbet, D.J. Evaluation of the bacterial diversity in cecal contents of laying hens fed various molting diets by using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 298-302. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00222>.
92. Borda-molina, D.; Seifert, J.; Camarinha-silva, A. Current Perspectives of the Chicken Gastrointestinal Tract, and Its Microbiome. *Comput. Struct. Biotechnol*, **2018**, *16*, 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.03.002>.
93. Giacobbo, F.C.N.; Eyng, C.; Nunes, R.V.; De-souza, C.; Teixeira, L.V.; Pilla, R.; Suchodolski, J.S.; Bortoluzzi, C. Different enzymatic associations in diets of 69 broiler chickens formulated with corn dried at various temperatures. *Poult. Sci.* **2021**, *100*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.01.035>.
94. Betancourt, Liliana., Hume, Michael., Fernando Rodríguez, David Nisbet, Muhammad Umar Sohail, Germán Afanador-Tellez. Effects of Colombian oregano essential oil (*Lippia origanoides* Kunth) and *Eimeria* species on broiler production and cecal microbiota. *Poult. Sci.* **2019**, *98*, 4777-4786, ISSN 0032-5791, <https://doi.org/10.3382/ps/pez193>.
95. Richards, P.; Fothergill, J.; Bernardeau, M.; Wigley, P. Development of the Caecal Microbiota in Three Broiler Breeds. *Front. vet. sci.* **2019**, *6*, 2019. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00201>.
96. Antonissen, G Eeckhaut, V.; Van Driessche, K.; Onrust, L.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R.; Moore, R.J.; Van-immerseel, F. Microbial shifts associated with necrotic enteritis. *Avian Path*, **2016**, *45*, 308-312. <https://doi.org/10.1080/03079457.2016.1152625>.
97. Genova JL, Rupolo PE, Azevedo LBd, Henz D, Carvalho ST, Kipper M, Gonçalves GdAC, Vilela HLO, Pasquetti TJ, Oliveira NTed, Dietrich ARM and Carvalho PLdO. β -mannanase supplementation in diets reduced in 85 kcal metabolizable energy/kg

- containing xylanase-phytase improves gain to feed ratio, nutrient usage, and backfat thickness in finisher pigs. *Front. Vet. Sci.*, **2023**, 10:1144692. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1144692>.
98. Alvarenga, Bauer Oliveira. Relação entre o aspecto morfológico de fezes de frangos de corte e sua composição bacteriana. Mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 72 f. **2020**.
 99. Adeola O., Cowieson A.J. Board invited review: Opportunities and challenges in the use of exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. *J. Anim. Science*, **2011**, 89, 3189–3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.
 100. Joat, N., Van, T. T. H., Stanley, D., Moore, R. J., & Chousalkar, K. Temporal dynamics of gut microbiota in caged laying hens: a field observation from hatching to end of lay. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2021**, 105, 4719-4730. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11333-8>.
 101. McReynolds, J., Waneck, C., Byrd, J., Genovese, K., Duke, S., & Nisbet, D. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogenetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. *Poult. Sci.* **2009**, 88, 2075-2080. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00106>.
 102. Pires, P. G. D. S., Torres, P., Teixeira Soratto, T. A., Filho, V. B., Hauptli, L., Wagner, G., ... & Moraes, P. D. O. Comparison of functional-oil blend and anticoccidial antibiotics effects on performance and microbiota of broiler chickens challenged by coccidiosis. *Plos one*, **2022**, 17, e0270350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270350>.
 103. Vieira, Alexandre. Mistura de óleos funcionais como promotor de crescimento e seu efeito na microbiota intestinal de aves e suínos. **2020**. Graduação. Universidade Estadual de Santa Catarina, Florianópolis- SC. 122 p.
 104. Singh, K.M.; Shah, T.; Deshpande, S.; Jakhesara, S.J.; Koringa, P.G.; Rank, D.N.; Joshi, C.G. High through put 16S rRNA gene-based pyrosequencing analysis of the fecal microbiota of high FCR and low FCR broiler growers. *Mol. Biol. Rep.*, **2012**, 39, <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1947-7>.
 105. Morgan, X. C., Tickle, T. L., Sokol, H., Gevers, D., Devaney, K. L., Ward, D. V., Reyes, J. A., Shah, S. A., LeLeiko, N., Snapper, S. B., Bousvaros, A., Korzenik, J., Sands, B. E., Xavier, R. J., & Huttenhower, C. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol.* **2012**, 13, R79. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-9-r79>.
 106. Kaufmann, Cristine. Níveis de energia metabolizável de dietas para frangos de corte suplementadas com enzimas exógenas e pósbiótico- Mestre. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, **2023**. 84 p.
 107. Stanley, D.; Geier, M.S.; Chen, H.; Hughes, R.J.; Moore, R.J. Comparison of fecal and cecal microbiotas reveals qualitative similarities but quantitative

- differences. *BMC Microbiology*, **2015**, 15, 51. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0388-6>.
108. Wei, S.; Morrison, M.; Yu, Z. Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poult. Sci.* **2013**, 92, 671-683. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02822>.
 109. Pan D, Yu Z. Gut microbiome of birds and its interaction with host and diet. *Micróbios Intestinais*. **2014**; 5:108–19. DOI: [10.4161/gmic.26945](https://doi.org/10.4161/gmic.26945).
 110. Ahn, S., Jin, T. E., Chang, D. H., Rhee, M. S., Kim, H. J., Lee, S. J., Park, D. S., & Kim, B. C. *Agathobaculum butyriciproducens* gen. nov. sp. nov., a strict anaerobic, butyrate-producing gut bacterium isolated from human faeces and reclassification of *Eubacterium desmolans* as *Agathobaculum desmolans* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **2016**, 66, 3656–3661. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001195>.
 111. Kirsty B, Daniella D, Erin M, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*. **2012**; 4: 1095–119. doi: [10.3390/nu4081095](https://doi.org/10.3390/nu4081095).
 112. Sokol, H.; Pigneur, B.; Watterlot, L. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *PNAS*, **2008**, 105, 16731-16736. doi: [10.1073/pnas.0804812105](https://doi.org/10.1073/pnas.0804812105).
 113. Fiagá, Dany Alberto Mesa. Microbiota intestinal em frangos de corte. Doutorado- Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PR, 107 f. **2018**.
 114. Oakley, B.B.; Buhr R.J.; Ritz, C.W.; Kiepper., B.H.; Berrang M.E.; BS, Seal, N.A. Cox. Successive changes in chicken cecal microbiome during 42 days of growth are independent of organic acid additives. *Veterinary BMC. Res.*, **2014**, 10, 282. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0282-8>.
 115. Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., Wang, W., Tang, W., Tan, Z., Shi, J., Li, L., & Ruan, B. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav. Immun.*, **2015**, 48, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.03.016>.
 116. Du, X., Xiang, Y., Lou, F., Tu, P., Zhang, X., Hu, X., Lyu, W., & Xiao, Y. Microbial Community and Short-Chain Fatty Acid Mapping in the Intestinal Tract of Quail. *Animals (Basel)*, **2020**, 10, 1006. <https://doi.org/10.3390/ani10061006>.
 117. Moeser, A. J., C. V. Klok, K. A. Ryan, J. G. Wooten, D. Little, V. L. Cook, And A. T. Blikslager. “Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig.” *Am. J. Physiol. Cell Physiol. Gastrointestinal and Liver Physiology*, **2007**, 292: G173–G181. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00197.2006>.
 118. Brisbin, J. T., Gong, J. And Sharif, S. “Interactions between commensal bacteria and the gut-associated immune system of the chicken.” *Anim. Health Res. Rev.*, **2008**, 9: 101-110. <https://doi.org/10.1017/s146625230800145x>.

119. Celi, P., Verlhac, V., Pérez C. E., Schmeisser, J. And Klunter, A. M. "Biomarcadores da funcionalidade gastrointestinal na nutrição e saúde animal." *Rev. Acad. Ciên. Anim.*, **2019**, 250: 9-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.012>.
120. Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement, and clinical implications in humans. *Gut*, **2019**, 68, 1516–1526. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318427>.
121. Hornbuckle, W. E., Simpson, K. W., & Tennant, B. C. Gastrointestinal Function. *Clin. Biochem of Dom. Anim.*, **2008**, 413–457. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00014-3>.
122. Madlala, T., Okpeku, M., & Adeleke, M. A. Understanding the interactions between *Eimeria* infection and gut microbiota, towards the control of chicken coccidiosis: a review. *Parasite* (Paris, France), **2021**, 28, 48. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021047>.
123. Teng, P. Y., Choi, J., Tompkins, Y., Lillehoj, H., & Kim, W. Impacts of increasing challenge with *Eimeria maxima* on the growth performance and gene expression of biomarkers associated with intestinal integrity and nutrient transporters. *Vet. Res.*, **2021**, 52, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00949-3>.
124. Gharib-Naseri, K., de Paula Dorigam, J. C., Doranalli, K., Kheravii, S., Swick, R. A., Choct, M., & Wu, S. B. Modulations of genes related to gut integrity, apoptosis, and immunity underlie the beneficial effects of *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 in broilers fed diets with different protein levels in a necrotic enteritis challenge model. *J. Anim. Sci. Biotechnology*. **2020**, 11, 104. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00508-4>.
125. Maria, Larissa Pereira. Avaliação do efeito da suplementação de um probiótico associado a diferentes níveis dietéticos de proteína balanceada em frangos de corte desafiados por *Eimeria maxima*. Graduation, **2021**, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Unesp, Jaboticabal, Brazil.