

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 09/03/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CAMPUS JABOTICABAL**

**IMPACTO DO DESAFIO POR COCCIDIOSE E DE NÍVEIS DE  
PROTEÍNA BALANCEADA NAS RESPOSTAS DE FRANGOS  
DE CORTE**

**Luís Filipe Villas Boas de Freitas**

**Zootecnista**

**2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**  
**CAMPUS JABOTICABAL**

**IMPACTO DO DESAFIO POR COCCIDIOSE E DE NÍVEIS DE  
PROTEÍNA BALANCEADA NAS RESPOSTAS DE FRANGOS  
DE CORTE**

**Discente: Luís Filipe Villas Boas de Freitas**  
**Orientadora: Profa. Dra. Nilva Kazue Sakomura**  
**Co-orientador: Dr. Juliano Cesar de Paula Dorigam**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de  
Jaboticabal, como parte das exigências para  
a obtenção do título de Doutorado em  
Zootecnia.**

**2023**

F866i Freitas, Luis Filipe Villas Boas de  
Impacto do desafio por coccidiose e de níveis de proteína  
balanceada nas respostas de frangos de corte / Luis Filipe Villas Boas  
de Freitas. -- Jaboticabal, 2023  
129 f.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientadora: Nilva Kazue Sakomura  
Coorientador: Juliano Cesar de Paula Dorigam

1. Nutrição Animal. 2. Avicultura de corte. 3. Coccidiose. 4.  
Eficiência de utilização. 5. Manutenção. 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.

## **REGISTRO DE IMPACTO**

O impacto esperado da tese é que a sociedade tenha o conhecimento das alterações nutricionais de aves criadas em desafio por coccidiose. A doença é responsável por causar redução no aproveitamento de nutrientes e no desempenho das aves, modificando as exigências nutricionais das mesmas, causando impacto ambiental e econômico.

## **IMPACT RECORD**

The expected impact of the thesis is that society has knowledge of the nutritional alterations of birds raised in challenge by coccidiosis, which is responsible for causing economic and environmental impact, promoting a reduction in the use of nutrients and in birds performance, modifying the birds nutritional requirements.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: IMPACTO DO DESAFIO POR COCCIDIOSE E DE NÍVEIS DE PROTEÍNA  
BALANCEADA NAS RESPOSTAS DE FRANGOS DE CORTE

**AUTOR: LUÍS FILIPE VILLAS BÔAS DE FREITAS**

**ORIENTADORA: NILVA KAZUE SAKOMURA**

**COORIENTADOR: JULIANO CESAR DE PAULA DORIGAM**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia, pela Comissão Examinadora:

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

Dr. FLÁVIO ALVES LONGO (Participação Virtual)  
Eastman Chemical do Brasil LTDA / São Paulo/SP

Prof. Dr. EDNARDO RODRIGUES FREITAS (Participação Virtual)  
Universidade Federal do Ceará / Fortaleza/CE

Professora Adjunta INES ANDRETTA (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre/RS

Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Virtual)  
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 09 de março de 2023

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Luís Filipe Villas Boas de Freitas, filho de João Mario Mendes de Freitas e Lucimara Villas-Bôas de Freitas, nascido no dia 31 de maio de 1995 em Varginha, Minas Gerais. Ingressou no curso de graduação em Zootecnia em 2013 na Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais, finalizando em 2017. Neste período foi bolsista de iniciação científica pela CAPES pelo Programa Jovens Talentos para a Ciência no período de 01 de agosto de 2013 a 01 de julho de 2014, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sarah Laguna Conceição Meirelles. Em sequência, durante o período de 01 de agosto de 2016 a 01 de dezembro de 2016, foi participante de iniciação científica voluntária e no período de 01 de dezembro de 2016 a 01 de junho de 2017 foi bolsista CNPq de iniciação científica ambas sob orientação do Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini. Iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia em julho de 2017 na mesma instituição e sob orientação do Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini, defendendo sua dissertação no dia 12 de julho de 2019. No mês de agosto de 2019, teve início ao curso de Doutorado em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, campus Jaboticabal sob orientação da Profa. Dra. Nilva Kazua Sakomura, obtendo bolsa CNPq. No período de dezembro de 2021 a maio de 2022 realizou doutorado sanduíche financiado pelo projeto CAPES Print na Université Laval sob orientação da Profa. Marie-Pierre Letourneau Montminy. Finalizou o curso de Doutorado em Zootecnia com a defesa de sua tese no dia 9 de março de 2023.

*“A grande tragédia da ciência: o massacre de uma bela hipótese por parte de um horrível fato” (Thomas Huxley)*



## **Dedicatória**

A todos que estão em busca do conhecimento. Que façam bom proveito.

## **Agradecimentos**

Primeiramente gostaria de agradecer a Ele, por me abençoar e me manter firme na caminhada. A Ela, mãezinha, que sempre abençoa e intercede por nós.

À minha família, minha base e modelo de vida, tudo o que fiz e faço é por que em algum momento teve quem zelou, cuidou e acreditou onde posso chegar.

À minha noiva Natalia, que esteve comigo em todos os momentos, sempre me apoiando e dando suporte, seja nos dias bons como nos dias péssimos. Te amo muito.

À professora Nilva Sakomura, por mostrar que para conseguirmos o que queremos temos que batalhar muito. Obrigado pelos ensinamentos, pelas oportunidades e pela cobrança (que não foram poucas). A evolução profissional e pessoal que tive no doutorado devo muito a senhora.

Aos coorientadores Juliano César de Paula Dorigam, Matheus de Paula Reis e Marie-Pierre Létourneau-Montiminy por todo conhecimento, oportunidades e disponibilidade.

Aos membros da banca por aceitarem o convite de colaborar com a tese.

Ao CNPq, CAPES, instituições governamentais e privadas que contribuíram para minha obtenção do título de doutor.

À todas as pessoas do grupo Lavinesp que tive o prazer de conhecer e trabalhar, aprendi muito com todos. Seja pós-doutorandos, doutorandos, mestrandos e estagiários, obrigado pelo apoio e ajuda. Estendo agora meu abraço especial aos amigos: Audasley, Bernardo, Bruno, Freddy, Gabriel, Guilherme, Matheus, Palloma, Raully, Robson, Rony, Rosiane e Torcido.

À republica 51, por ser minha moradia nesses três anos, em especial a Dona Vera, por cuidar de todos como se fossemos filhos. Aos amigos Casca (e família), Benta, Mística e Nono.

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

E a todos que dividiram um pouco de suas vidas comigo nessa fase tão especial, seja em uma disciplina, na conversa de bar ou até na troca de conhecimentos.

Muito Obrigado!



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 **“Resposta de frangos de corte a níveis crescentes de proteína balanceada e submetidos a desafio sanitário”**, protocolo nº 014470/19, 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 14 de novembro de 2019.

|                     |   |
|---------------------|---|
| Vigência do Projeto | 01/12/2019 a 05/05/2023                         |
| Espécie / Linhagem  | <i>Gallus gallus domesticus</i> / Cobb 500      |
| Nº de animais       | 3600  |
| Peso / Idade        | 40 g / 1 dia                                    |
| Sexo                | Machos  |
| Origem              | Incubatório Pluma agroavícola – Descalvado - SP |

Jaboticabal, 14 de novembro de 2019.

  
**Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski**  
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil  
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

## IMPACTO DO DESAFIO POR COCCIDIOSE E DE NÍVEIS DE PROTEÍNA BALANCEADA NAS RESPOSTAS DE FRANGOS DE CORTE

**RESUMO** – A coccidiose é responsável por promover lesões intestinais nos animais podendo alterar o aproveitamento de nutrientes, como a da proteína, e promover dispêndios nutricionais para reparação do tecido danificado e promoção das respostas imune para defesa do organismo, o que reduz o desempenho das aves. Determinar como os nutrientes são utilizados por frangos de corte em desafio sanitário auxilia na tomada de decisões dos formuladores quanto a dieta de frangos desafiados. Assim, teve-se como objetivo na presente tese [1] determinar o impacto do desafio sanitário promovido por *Eimeria maxima* sobre a manutenção e eficiência de utilização de proteína balanceada, além de, [2] determinar as modificações nas respostas de saúde intestinal, digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos e proteína bruta. E por último [3] determinar os efeitos da coccidiose no desempenho de frangos de corte determinando os fatores influentes ao mesmo. Com intuito de responder os dois primeiros objetivos, um experimento foi realizado com 2400 frangos de corte machos da linhagem Cobb500, de 14 a 28 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, alimentados com cinco níveis de proteína balanceada e aves desafiadas ou não por *Eimeria maxima*. Variáveis de desempenho, deposição de tecidos, saúde intestinal e digestibilidade ileal aparente foram mensuradas para obtenção da resposta. Os fatores principais e suas interações foram analisadas pelo teste de análise de variância seguidas pelo teste de comparação de média de Tukey a 5% de probabilidade. Para responder o terceiro e último objetivo, uma meta-análise foi realizada avaliando os fatores que influenciam na resposta das aves desafiadas comparadas ao grupo não desafiado, determinando o impacto do desafio por coccidiose no desempenho avaliados pelo modelo linear misto a 5% de probabilidade. Foi observado que a manutenção de proteína balanceada não foi alterada ( $P>0.05$ ) quando as aves foram desafiadas por *Eimeria maxima*, contudo a eficiência da utilização de proteína foi reduzida significativamente. Em geral, o desafio reduziu ( $P<0.05$ ) o desempenho das aves, a saúde intestinal, a digestibilidade ileal aparente de alguns aminoácidos. Níveis alto de proteína resultaram em efeito associativo com o desafio reduzindo o desempenho e a saúde intestinal. A partir da meta-análise foi

possível identificar que os dias pós-infecção é o principal fator que atua na piora do desempenho das aves ( $P < 0.05$ ), e que a coccidiose em si, impacta mais o ganho de peso que o consumo de ração das mesmas, fatores que podem ser ligados há um menor aproveitamento de nutrientes. Conclui-se que a coccidiose impacta negativamente no desempenho e na eficiência de utilização de proteína balanceada em frangos de corte.

**Palavras-chave:** Eficiência de utilização, *Eimeria maxima*, manutenção, meta-análise, saúde intestinal

## IMPACT OF COCCIDIOSIS CHALLENGE AND BALANCED PROTEIN LEVELS ON THE RESPONSES OF BROILER CHICKENS

**ABSTRACT** – Coccidiosis is responsible for promoting intestinal lesions in animals, which can alter the use of nutrients, such as protein, and promote nutritional expenditure to repair damaged tissue and promote immune responses, which reduces the performance of birds. Determining how nutrients are used by broiler chickens in health challenges helps to make decisions regarding the diet of challenged chickens. Thus, the objective of this thesis [1] was to determine the impact of the health challenge promoted by *Eimeria maxima* on the maintenance and efficiency of utilization of balanced protein, in addition to [2] determining changes in intestinal health responses, amino acids, and crude protein ileal apparent digestibility. And finally [3] to determine the effects of coccidiosis on the performance of broiler chickens by determining the influence factors. To answer the first two objectives, an experiment was carried out with 2,400 male broilers, Cobb500, from 14 to 28 days old, distributed in a completely randomized design, fed with five levels of balanced protein, and birds challenged or not by *Eimeria maxima*. Performance variables, tissue deposition, gut health, and apparent ileal digestibility were measured to obtain the response. The main factors and their interactions were analyzed by the analysis variance test followed by the Tukey test at 5% probability. To answer the last objective, a meta-analysis was performed evaluating the factors that influence the response of the challenged birds compared to the unchallenged group, determining the impact of the coccidiosis challenge on the performance evaluated by the mixed linear model at a 5% probability. It was observed that the maintenance of balanced protein was not altered ( $P>0.05$ ) when birds were challenged by *Eimeria maxima*, however, the efficiency of protein utilization was significantly reduced. In general, the challenge reduced ( $P<0.05$ ) bird performance, gut health, and apparent ileal digestibility of some amino acids. High protein levels resulted in an associative effect with *E. maxima* challenge impairing performance and gut health. From the meta-analysis, it was possible to identify that the days post-infection was the main factor that acts in the performance of the birds ( $P<0.05$ ), and coccidiosis impacts more the weight gain than the feed intake on birds, response that can be linked

to reduced use of nutrients. It is concluded that coccidiosis harms the performance and efficiency of using balanced protein in broiler chickens.

**Keywords:** Efficiency of utilization, *Eimeria maxima*, gut health, maintenance, meta-analysis.

## CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

### 1. INTRODUÇÃO

A cadeia avícola brasileira possui destaque mundial, de forma que no ano de 2021, o país foi responsável pela produção de 14,3 milhões de toneladas de carne de frango, posicionando-se como o terceiro maior produtor e o maior exportador a nível mundial (ABPA, 2022). Resultados que só foram atingidos devido a organização e tecnificação dos elos da cadeia avícola (ambiência, nutrição, saúde e bem-estar). Com a intensificação para uma maior produtividade, a produção de frangos de corte no Brasil se baseia em sua grande maioria no sistema de confinamento, ou seja, a partir do uso de pequenas áreas com uma maior densidade de indivíduos, onde é atingido índices produtivos maiores. Contudo, maior densidade de animais em um mesmo local possibilita maior propagação de doenças, o que faz com que lotes quando acometidos por desafios sanitários resultem em grandes prejuízos ao setor.

Ao longo dos anos a doença coccidiose tem despertado a atenção do setor produtivo avícola, por ser uma doença recorrente na produção dos frangos. Causada pelo protozoário do gênero *Eimeria*, possui como especificidade o desenvolvimento de parte do seu ciclo de vida no intestino das aves, atuando de forma intracelular, o que causa o rompimento das mesmas resultando em menor aproveitamento dos nutrientes (Chapman, 2014). Em sua forma subclínica é responsável pela redução do desempenho das aves, sem apresentar sintomatologias clínicas, levando a perdas econômicas advindas da queda do desempenho e também associada aos gastos profiláticos (Kipper et al., 2013). A coccidiose pode ser ocasionada por diferentes espécies em frangos de corte, de forma que cada uma possui suas especificidades de atuação e consequências, com destaque as espécies *acervulina*, *maxima* e *tenella* (Williams, 2005).

Animais em crescimento acometidos por doenças apresentam retardamento do desenvolvimento, o que gera prejuízos ao setor. De forma que, o crescimento diminuído pode ser atribuído a diversos fatores, desde gastos nutricionais para promoção do sistema imune e de sintomatologias ocasionadas pelo próprio organismo, até a própria ação do patógeno que impede o aproveitamento de nutrientes pelo



hospedeiro e causa dispêndios para reparo dos tecidos danificados (Sandberg et al., 2007). Além do mais, fatores associados ao ambiente x nutrição x doença podem vir a influenciar a resposta da ave frente ao desafio. Dessa forma, determinar como um nutriente, em exemplo a proteína, é utilizado pela ave no momento em que a mesma é desafiada contribui para a tomada de decisões técnicas como forma de intervenção nutricional de lotes recorrentes da infecção.

Com isso, estudos foram realizados com intuito de [1] determinar a utilização de proteína balanceada pelas aves em situação de desafio sanitário por coccidiose (*Eimeria maxima*), além de, [2] determinar as respostas das aves frente a diferentes níveis de proteína sobre desempenho, saúde intestinal e digestibilidade, e se diferem quando as aves são desafiadas por coccidiose. E mais, [3] determinar os efeitos da coccidiose no desempenho relativo de frangos de corte determinando os fatores influentes ao mesmo.

## Conclusion

The challenge by *Eimeria maxima*, in general, was responsible to impair gut health and reduce AID for Met, Met+Cys, Arg, Ser, and Pro. The association of *Eimeria maxima* challenged and the increase of dietary BP results in an aggravation of the challenge and worsening of the litter quality. High amounts of BP levels were responsible to impair gut health, and for worsening litter quality and footpad dermatitis. The extreme reduction of BP level (6.66%) causes a reduction in morphometrics and worsened AID. **Acknowledgments**

The authors thanks Biovet Vaxxinova® for providing *Eimeria maxima* inoculum. UNESP/FCAV for providing the possibility to accomplish the trial. LAVINESP group for helping to conduct the study. LabEPar group for oocysts analysis.

## Funding

This work was supported by Evonik Operations GmbH and CNPq (Process 142557/2019-6).

## Reference

- Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*, 11(7), 36-42.
- Adedokun, S. A., Helmbrecht, A., & Applegate, T. J. (2016). Investigation of the effect of coccidial vaccine challenge on apparent and standardized ileal amino acid digestibility in grower and finisher broilers and its evaluation in 21-day-old broilers. *Poultry science*, 95(8), 1825-1835, doi: 10.3382/ps/pew066.
- Amerah, A.M., Ravindran, V., 2015. Effect of coccidia challenge and natural betaine supplementation on performance, nutrient utilization, and intestinal lesion scores

- of broiler chickens fed suboptimal level of dietary methionine. *Poult. Sci.* 94, 673–680. <https://doi.org/10.3382/ps/pew066>.
- AminoDat® 5.0 Animal nutritionist's information edge. Essen: Evonik Nutrition and Care GmbH; 2016.
- Arrieta, M. C., Bistriz, L., & Meddings, J. B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55(10), 1512-1520.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2005). "Official methods of analysis", volume 2, 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Barekatin, R., Natrass, G., Tilbrook, A. J., Chousalkar, K., & Gilani, S. (2019). Reduced protein diet and amino acid concentration alter intestinal barrier function and performance of broiler chickens with or without synthetic glucocorticoid. *Poultry Science*, 98(9), 3662-3675. <https://doi.org/10.3382/ps/pey563>.
- Bessay, M., Le Vern, Y., Kerboeuf, D., Yvore, P., & Quéré, P. (1996). Changes in intestinal intra-epithelial and systemic T-cell subpopulations after an *Eimeria* infection in chickens: comparative study between *E. acervulina* and *E. tenella*. *Veterinary research*, 27(4-5), 503-514.
- Blake, D. P., Knox, J., Dehaeck, B., Huntington, B., Rathinam, T., Ravipati, V., ... & Tomley, F. M. (2020). Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Veterinary Research*, 51(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00837-2>.
- Bortoluzzi, C., Fernandes, J. I. M., Doranalli, K., & Applegate, T. J. (2020). Effects of dietary amino acids in ameliorating intestinal function during enteric challenges in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 262, 114383. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114383>.

- Britton, W. M., Hill, C. H., & Barber, C. W. (1964). A mechanism of interaction between dietary protein levels and coccidiosis in chicks. *The Journal of Nutrition*, 82(3), 306-310. <https://doi.org/10.1093/jn/82.3.306>.
- Chen, X., Naehrer, K., & Applegate, T. J. (2016). Interactive effects of dietary protein concentration and aflatoxin B1 on performance, nutrient digestibility, and gut health in broiler chicks. *Poultry science*, 95(6), 1312-1325. <https://doi.org/10.3382/ps/pew022>.
- Cobb (2022) Cobb 500™ Broiler performance & nutrition supplement. Available at [https://www.cobb-vantress.com/en\\_US/products/cobb500/](https://www.cobb-vantress.com/en_US/products/cobb500/) [Verified 21 of September of 2022]
- Collier, C. T., Hofacre, C. L., Payne, A. M., Anderson, D. B., Kaiser, P., Mackie, R. I., & Gaskins, H. R. (2008). Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Veterinary immunology and immunopathology*, 122(1-2), 104-115. doi:10.1016/j.vetimm.2007.10.014
- Ding, X. M., Li, D. D., Li, Z. R., Wang, J. P., Zeng, Q. F., Bai, S. P., ... & Zhang, K. Y. (2016). Effects of dietary crude protein levels and exogenous protease on performance, nutrient digestibility, trypsin activity and intestinal morphology in broilers. *Livestock Science*, 193, 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.09.002>.
- EI-Wahab, A., Radko, D., & Kamphues, J. (2013). High dietary levels of biotin and zinc to improve health of foot pads in broilers exposed experimentally to litter with critical moisture content. *Poultry Science*, 92(7), 1774-1782. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03054>.

- Fisher, C., Morris, T. R., & Jennings, R. C. (1973). A model for the description and prediction of the response of laying hens to amino acid intake. *British Poultry Science*, 14(5), 469-484. doi: 10.1080/00071667008415793.
- Gharib-Naseri, K., de Paula Dorigam, J. C., Doranalli, K., Kheravii, S., Swick, R. A., Choct, M., & Wu, S. B. (2020). 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. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00508-4>.
- Gordon, H. M., & Whitlock, H. V. (1939). A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the council for Scientific and Industrial Research*, 12(1), 50-52.
- Hilliar, M., Keerqin, C., Girish, C. K., Barekatin, R., Wu, S. B., & Swick, R. A. (2020). Reducing protein and supplementing crystalline amino acids, to alter dietary amino acid profiles in birds challenged for subclinical necrotic enteritis. *Poultry Science*, 99(4), 2048-2060, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.042>.
- Kim, E., Létourneau-Montminy, M. P., Lambert, W., Demersay, T. C., & Kiarie, E. G. (2021). Centennial Review: A meta-analysis of the significance of *Eimeria* infection on apparent ileal amino acid digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 101625. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101625>.
- Kipper, M., Andretta, I., Lehnen, C. R., Lovatto, P. A., & Monteiro, S. G. (2013). Meta-analysis of the performance variation in broilers experimentally challenged by *Eimeria* spp. *Veterinary parasitology*, 196(1-2), 77-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.013>

- Laudadio, V., Passantino, L., Perillo, A., Lopresti, G., Passantino, A., Khan, R. U., & Tufarelli, V. (2012). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poultry Science*, 91(1), 265-270. doi: 10.3382/ps.2011-0167.
- Li, P., Yin, Y. L., Li, D., Kim, S. W., & Wu, G. (2007). Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98(2), 237-252. doi:10.1017/S000711450769936X
- Luquetti, B.; Furlan, R. L.; Alarcon, M.; Macari, M. *Saccharomyces cerevisiae* cell wall dietary supplementation on the performance and intestinal mucosa development and integrity of broiler chickens vaccinated against coccidiosis. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 14, n. 2, p. 89-95, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2012000200002>
- Mitchell, H. L. (1964). *Comparative nutrition of man and domestic animals*. (p. 701) Elsevier.
- Mtshali, S. A., & Adeleke, M. A. (2020). A review of adaptive immune responses to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* challenge in chickens. *World's Poultry Science Journal*, 76(4), 827-841. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1833693>.
- Nagaraj, M., Wilson, C. A. P., Saenmahayak, B., Hess, J. B., & Bilgili, S. F. (2007). Efficacy of a litter amendment to reduce pododermatitis in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(2), 255-261. <https://doi.org/10.1093/japr/16.2.255>.
- Ndazigaruye, G., Kim, D. H., Kang, C. W., Kang, K. R., Joo, Y. J., Lee, S. R., & Lee, K. W. (2019). Effects of low-protein diets and exogenous protease on growth performance, carcass traits, intestinal morphology, cecal volatile fatty acids and

- serum parameters in broilers. *Animals*, 9(5), 226.  
<https://doi.org/10.3390/ani9050226>.
- Qaisrani, S. N., Van Krimpen, M. M., Kwakkel, R. P., Verstegen, M. W. A., & Hendriks, W. H. (2015). Dietary factors affecting hindgut protein fermentation in broilers: a review. *World's Poultry Science Journal*, 71(1), 139-160.  
doi:10.1017/S0043933915000124.
- Ravindran, V., Abdollahi, M. R., & Bootwalla, S. M. (2014). Nutrient analysis, metabolizable energy, and digestible amino acids of soybean meals of different origins for broilers. *Poultry science*, 93(10), 2567-2577. doi: 10.3382/ps.2014-04068.
- Reynolds, K. L., Cloft, S. E., & Wong, E. A. (2020). Changes with age in density of goblet cells in the small intestine of broiler chicks. *Poultry science*, 99(5), 2342-2348. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.052>.
- Rochell, S.J., Parsons, C.M., Dilger, R.N., 2016. Effects of *Eimeria acervulina* infection severity on growth performance, apparent ileal amino acid digestibility, and plasma concentrations of amino acids, carotenoids, and  $\alpha$ 1-acid glycoprotein in broilers. *Poult. Sci.* 95, 1573–1581. <https://doi.org/10.3382/ps/pew035>.
- Rostagno, H. S., & Becker, B. G. (2017). Brazilian tables for poultry and swine: composition of feedstuffs and nutritional requirements Viçosa. Brazil: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia.
- Rothwell, L., Gramzinski, R. A., Rose, M. E., & Kaiser, P. (1995). Avian coccidiosis: changes in intestinal lymphocyte populations associated with the development of immunity to *Eimeria maxima*. *Parasite immunology*, 17(10), 525-533. doi: 10.1111/j.1365-3024.1995.tb00883.x.

- Sakomura, N. K., & Rostagno, H. S. (2016). Metodologias de pesquisa em nutrição de monogástrico.
- Sandberg, F. B., Emmans, G. C., & Kyriazakis, I. (2007). The effects of pathogen challenges on the performance of naïve and immune animals: the problem of prediction. *Animal*, 1(1), 67-86. doi: 10.1017/S175173110765784X
- Santos, T. S. D., Teng, P. Y., Yadav, S., Castro, F. L. D. S., Gould, R. L., Craig, S. W., ... & Kim, W. K. (2020). Effects of Inorganic Zn and Cu Supplementation on Gut Health in Broiler Chickens Challenged With *Eimeria* spp. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 230. doi:10.3389/fvets.2020.00230
- SAS, 2004. Statistical Analysis System, SAS Institute, Inc. Cary., N. C. USA.
- Sharma, V. D., Fernando, M. A., & Summers, J. D. (1973). The effect of dietary crude protein level on intestinal and cecal coccidiosis in chicken. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 37(2), 195.
- Silva, D.J.; Queiroz. A. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.
- Stabel, T. J., Bolin, S. R., Pesch, B. A., & Rahner, T. E. (2000). A simple and rapid flow cytometric method for detection of porcine cell surface markers. *Journal of immunological methods*, 245(1-2), 147-152. doi: 10.1016/s0022-1759(00)00289-1
- Taylor, J., Sakkas, P., & Kyriazakis, I. (2022). Starving for nutrients: anorexia during infection with parasites in broilers is affected by diet composition. *Poultry science*, 101(1), 101535. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101535>.
- Teng, P. Y., Choi, J., Tompkins, Y., Lillehoj, H., & Kim, W. (2021). Impacts of increasing challenge with *Eimeria maxima* on the growth performance and gene expression



- of biomarkers associated with intestinal integrity and nutrient transporters. *Veterinary Research*, 52(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00949-3>.
- Torres, K. A. A., Pizauro Jr, J. M., Soares, C. P., Silva, T. G. A., Nogueira, W. C. L., Campos, D. M. B., ... & Macari, M. (2013). Effects of corn replacement by sorghum in broiler diets on performance and intestinal mucosa integrity. *Poultry Science*, 92(6), 1564-1571. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02422>.
- Van Harn, J., Dijkslag, M. A., & Van Krimpen, M. M. (2019). Effect of low protein diets supplemented with free amino acids on growth performance, slaughter yield, litter quality, and footpad lesions of male broilers. *Poultry science*, 98(10), 4868-4877. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez229>.
- Van Nevel, C. J., Decuypere, J. A., Dierick, N. A., & Molly, K. (2005). 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(2), 123-138. doi:10.1080/17450390512331387936
- Vicuña, E. A., Kuttappan, V. A., Tellez, G., Hernandez-Velasco, X., Seeber-Galarza, R., Latorre, J. D., ... & Bielke, L. R. (2015). Dose titration of FITC-D for optimal measurement of enteric inflammation in broiler chicks. *Poultry science*, 94(6), 1353-1359. doi: 10.3382/ps/pev111
- Wang, G., Ekstrand, C.; Svedberg, J. Wet litter and perches as risk factors for the development of foot pad dermatitis in floor-housed hens. *British Poultry Science*, v.39, p.191-197, 1998. doi: 10.1080/00071669889114.
- Welfare Quality (WQ) 2009. The Welfare Quality® assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality® Consortium, Lelystad, the Netherlands.

- Youssef, I. M., Beineke, A., Rohn, K., & Kamphues, J. (2011). Effects of high dietary levels of soybean meal and its constituents (potassium, oligosaccharides) on foot pad dermatitis in growing turkeys housed on dry and wet litter. *Archives of animal nutrition*, 65(2), 148-162. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2010.533548>.
- Yu, M., Jeon, J. O., Cho, H. M., Hong, J. S., Kim, Y. B., Nawarathne, S. R., ... & Heo, J. M. (2021). Broiler responses to dietary 3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid and oregano extracts under *Eimeria* challenge conditions. *Journal of Animal Science and Technology*, 63(6), 1362. doi: 10.5187/jast.2021.e121.