



**MELISSA LANGSDORFF PIMENTA**

**O EXTRATO DE *Bidens pilosa* TEM EFEITO  
ANTICOCCIDIANO COM AÇÃO NA SAÚDE INTESTINAL  
DE FRANGOS DE CORTE**

**LAVRAS-MG**

**2023**

**MELISSA LANGSDORFF PIMENTA**

**O EXTRATO DE *Bidens pilosa* TEM EFEITO ANTICOCCIDIANO COM AÇÃO NA  
SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Lavras, como parte das  
exigências do Curso de Zootecnia, para a  
obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini  
Orientador

Ms. Márcia das Neves Soares  
Coorientadora

**LAVRAS-MG**

**2023**

**MELISSA LANGSDORFF PIMENTA**

**O EXTRATO DE *Bidens pilosa* TEM EFEITO ANTICOCCIDIANO COM AÇÃO NA  
SAÚDE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Lavras, como parte das  
exigências do Curso de Zootecnia, para a  
obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 20 de agosto de 2023.

Dr. Antônio Gilberto Bertechini UFLA

Ms. Márcia das Neves Soares UFLA

Dra. Andressa Carla de Carvalho UFLA

Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini

Orientador

Ms. Márcia das Neves Soares

Coorientadora

**LAVRAS-MG**

**2023**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à Deus, por ter me permitido chegar até aqui, me abençoando com saúde e determinação durante toda a minha caminhada, fazendo com que meus objetivos fossem alcançados

A minha mãe Eltsa, meu grande alicerce, minha inspiração, a quem devo a vida e tudo que sou hoje. Nada seria possível e não teria sentido se não tivesse a sra. ao meu lado. É por você mãe!

A minha irmã Larissa, meu exemplo, por sempre me apoiar, vibrar comigo cada conquista e não me deixar cair nos momentos difíceis. Sem você, eu também não teria chegado até aqui. Ao meu pai Adilson (in memoriam), você sempre estará comigo. Espero que de onde estiver se orgulhe de mim.

Ao meu companheiro de vida Matheus, por ser meu ponto de paz, por todo amor, compreensão e apoio, sempre.

A minha filha bichológica Belinha, por ser meu refúgio e meu grande amor.

Aos meus afilhados queridos, Isaac e Lucas, por me alegrarem e ensinarem tanto, mesmo tão pititicos.

Aos demais familiares e amigos por toda torcida e carinho, por cada momento até aqui. Em especial Delinho, Marcela, Sara, Thalita, Jhennifer, Suzy, Duda, Bella, Maraiza, Lamark, Bruna, Vanessa, Sarah, Bárbara, Hellen, Carol, Léo, William, Lucas, Guilherme, Matheus (todos, rs), e demais pessoas que acreditaram no meu potencial.

Ao meu professor orientador Dr. Antônio Bertechini, pela disponibilidade, paciência, apoio e pelas valiosas contribuições e ensinamentos dados durante todo o processo.

A minha coorientadora Dra. Márcia, também pela disponibilidade e apoio, por prontamente me ajudar com tanto carinho e sabedoria, sempre que a procurei.

Ao NECTA e ao Centro de Pesquisa e Tecnologia Avícola (CPTA), pela oportunidade de crescimento. Em especial, a cada pessoa que me auxiliou até aqui, Dra. Andressa, Pâmela, Elias e colaboradores do “sítio”.

Por último, quero agradecer também à Universidade Federal de Lavras, todo o seu corpo docente, por cada ensinamento. E, a todos aqueles que, por um lapso não mencionei, mas que colaboraram para este trabalho: abraços fraternos a todos!

Muito obrigada!

## RESUMO

A coccidiose é uma doença parasitária encontrada em muitos aviários e tem causado prejuízos significativos no desempenho e na eficiência de produção de frangos de corte. Nesse viés, o experimento foi conduzido com o objetivo de determinar a viabilidade de uso da *Bidens pilosa* como um anticoccidiano natural alternativo e avaliar a possibilidade de substituição do uso de anticoccidianos ionóforos. Um total de 720 pintos de corte Cobb-500 de um dia de idade foram distribuídos em 48 parcelas experimentais em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e oito repetições cada. As dietas experimentais foram à base de milho e farelo de soja em todas as fases de desenvolvimento (fase inicial, crescimento e final). As aves foram inoculadas com os oocistos esporulados de *Eimeria maxima* ( $8 \times 10^4$ ) e os tratamentos foram: T1 (Controle Positivo (CP): Com salinomicina e sem extrato de *Bidens pilosa*, T2 (Controle negativo (CN): Sem salinomicina e sem extrato de *Bidens pilosa*, T3 (extrato de *Bidens pilosa* de 1 a 42 dias- 150 g/T), T4 (Extrato de *Bidens pilosa* de 1 a 42 dias- 250 g/T), T5 (Anticoccidiano natural *Bidens pilosa* de 1 a 42 dias- 350 g/T), T6 (Salinomicina até 21 dias- 60 g/T e extrato de *Bidens pilosa* de 22 a 42 dias- 250 g/T). Foram avaliados o desempenho, consumo de ração, mortalidade, ganho de peso, contagem de oocistos, coloração sérica, escore de lesão intestinal, morfologia intestinal e rendimento de carcaça. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa SISVAR e a comparação das médias foram feitas através do teste Tukey, ao nível de 5% de significância. Os resultados indicaram que o consumo de ração não teve diferença entre os tratamentos, exceto para o tratamento com salinomicina sódica ( $P < 0,05$ ), que apresentou o maior consumo. O ganho de peso nos tratamentos T4, T5 e T6 foram semelhantes ( $P > 0,05$ ). A melhor conversão alimentar foi observada com o uso de 350 g/t do extrato de *Bidens pilosa* bem como o uso de salinomicina com o extrato de *Bidens pilosa*, sendo até melhor do que o controle positivo ( $P < 0,05$ ). O rendimento de carcaça e cortes não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos. Quanto à morfologia intestinal, foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos nas medidas de altura de vilos do jejuno e íleo. Os menores valores para altura de vilosidades foram observados no controle negativo. Não foram observadas diferenças estatísticas ( $P > 0,056$ ) nas profundidades de criptas. No escore de lesão, o controle negativo apresentou maior escore ( $P < 0,05$ ). O número de oocistos de eimerias por grama e as células caliciformes não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ). Os valores de coloração sérica foram influenciados ( $P < 0,05$ ), sendo o menor valor apresentado para o tratamento sem anticoccidiano. Conclui-se que, o uso do extrato de *Bidens pilosa* a partir de 250 g/tonelada tem efeitos semelhantes no desempenho e qualidade intestinal das aves em relação ao uso do ionóforo.

**Palavras chave:** Avicultura. Desempenho. Doença subclínica. Eimeria. Extrato natural.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
2.1	Coccidiose avícola.....	8
2.1.1	Controle da coccidiose e mecanismos de ação .....	11
2.2	Proibição da utilização dos antibióticos.....	14
2.3	Saúde intestinal.....	15
2.4	Alternativas a utilização de anticoccidianos ionóforos na dieta de frangos.....	17
2.4.1	<i>Bidens pilosa</i> .....	28
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1	Local, aves, instalações e equipamentos.....	20
3.2	Delineamento experimental, tratamentos e período de desafio por <i>Eimerias</i> .....	20
3.3	Medidas de avaliação.....	22
3.3	Análises laboratoriais e avaliação estatística.....	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1	Desempenho.....	24
4.2	Rendimento de carcaça.....	27
4.3	Morfologia intestinal.....	27
4.4	Escore de lesão, contagem oocistos, células caliciformes e coloração sérica.....	29
5	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

## 1 INTRODUÇÃO

O setor de avicultura de corte vem se destacando cada dia mais no cenário econômico mundial, produzindo uma das principais fontes de proteína animal. No entanto, apesar do constante crescimento, as aves enfrentam desafios de sanidade que preocupam o setor, como a Coccidiose. Segundo estudos da Embrapa, essa é uma das doenças infecciosas de maior importância econômica na avicultura, devido ao impacto negativo no desempenho zootécnico, causando mortalidade e, conseqüentemente, perdas econômicas em todo o setor, estimadas em US\$3 bilhões ao ano. Estes protozoários, ao se multiplicarem nas células intestinais, causam lesões na mucosa do trato gastrointestinal, alterando os processos digestórios das aves e assim, comprometendo a absorção dos nutrientes (REVOLLEDO, 2005).

A busca pelo entendimento da microbiota e morfologia intestinal das aves vem ganhando destaque nos últimos anos, pois o comprometimento das estruturas responsáveis pela digestão e absorção dos nutrientes têm efeito significativo sobre o desempenho produtivo das aves (TARDOCCHI, 2019). Além das funções normais do sistema digestivo (digestão e absorção de nutrientes), o intestino tem função imunológica muito importante, pois é exposto a diversos antígenos, o que exige selecionar quais partículas são inócuas e quais oferecem risco ao organismo. O processo de absorção depende de mecanismos de transporte que ocorrem nas membranas das células epiteliais da mucosa, portanto, a integridade dessas células é de suma importância, qualquer injúria pode causar graves danos a esse processo (MOWAT, 2003).

O uso dos antibióticos na avicultura tem como função a promoção do crescimento e a prevenção de diversas doenças. Na América do Norte, antibióticos como tetraciclina, bacitracina, tilosina, salinomocina e virginiamicina eram frequentemente usados na avicultura intensiva (DIARRA; MALOUIN, 2014). No entanto, o surgimento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos e sua transmissão aos seres humanos podem ameaçar a segurança alimentar e a saúde pública (SCHULZ E RADEMACHER, 2017). Além dos antibióticos ionóforos, são utilizados também os anticoccidianos químicos, porém, estes tendem a criar uma resistência coccidiana muito mais rápido do que os ionóforos e devem ficar em repouso por um período prolongado de tempo, devido a efeitos residuais (maior período de carência). Além disso, há um número limitado de anticoccidianos desta classe no mercado e, ao contrário dos ionóforos, os produtos químicos não têm um efeito antibiótico que auxilie na prevenção da enterite necrótica (CERVANTES, 2015).

As criações atuais de frangos de corte lidam com esse problema e devido ao impacto da coccidiose no setor, não é possível a criação sem a utilização de um aditivo que controle tal doença. Impulsionados pelas fortes críticas e restrições ao uso dessas substâncias, outros aditivos alternativos aos melhoradores de desempenho passaram a ser pesquisados e comercializados. Em meio à demanda crescente por uma produção mais orgânica e sustentável, a substituição de moléculas sintéticas por compostos naturais tem sido vista cada vez mais como uma importante ferramenta alternativa (PAVANELI, 2023).

De acordo com Callaway (2021), os extratos de plantas têm mostrado resultados extremamente promissores em termos de parâmetros zootécnicos, modulação imune e redução dos efeitos negativos de desafios patogênicos, especialmente com infecções entéricas. Nesse sentido, várias pesquisas têm sido feitas com a *Bidens pilosa*. Estudos apontam que essa é uma fonte extraordinária de fitoquímicos, particularmente flavonóides e polinos. Os flavonoides vegetais são comumente relatados como possuidores de bioatividades anticancerígenas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e outras (BARTOLOME, 2013).

Assim, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a viabilidade e os efeitos do extrato de *Bidens pilosa*, no período de criação de 1 a 42 dias de idade, através de alguns parâmetros zootécnicos, sendo esses: desempenho, mortalidade, contagem de oocistos, coloração sérica, escore de lesão, e saúde intestinal. Além de avaliar também, a possibilidade da substituição do uso de anticoccidianos convencionais.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Coccidiose avícola**

A coccidiose aviária é uma das doenças parasitárias de maior impacto na avicultura. Causada por protozoários do gênero *Eimeria*, essa doença vem gerando prejuízos estimados em 3 bilhões de dólares ao setor avícola (EMBRAPA; FEDDERN, 2016). Segundo Entzeroth (1998), as espécies do gênero *Eimeria*, pertencem ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa e família Eimeriidae. Existem várias espécies identificadas, no entanto, as que oferecem maior risco para a indústria avícola são: *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti* e *E. necatrix*, pois os coccídeos se reproduzem com grande facilidade e podem chegar a 500.000 descendentes em apenas 4 dias. Cada espécie de *Eimeria sp.* possui suas particularidades, como local do intestino de predileção, características e severidades das lesões, mas, todas

causam grandes injúrias que prejudicam a absorção de nutrientes, afetando a saúde intestinal e impactando diretamente no desempenho das aves (SALLES, 2020).

É evidente a necessidade de conhecer o ciclo deste parasita, tendo em vista que, além de causar diarreias severas, ainda há um efeito sinérgico com outras doenças, como a enterite necrótica, fazendo com que os danos sejam ainda mais graves. De acordo com Allen e Fetterer (2002), após as aves ingerirem os oocistos esporulados, ao chegar na moela, estes se rompem, liberando os esporocistos que, após sofrerem ação da “tripsina quinase” tem os esporozoítos liberados, essa excitação dos esporozoítos ocorre no intestino delgado, onde se aderem e penetram as células do epitélio intestinal.

A primeira fase do ciclo é denominada como esquizogonia e se inicia com a invasão dos enterócitos pelos esporozoítos, formando o esquizonte, unidade repleta de merozoítos (DANFORTH, 1999). Há então, a maturação do esquizonte de primeira geração, onde ocorre o rompimento das células e a liberação de merozoítos. Logo após, estes merozoítos penetram em células do epitélio intestinal, dando origem aos esquizontes de segunda geração. Após a última geração de esquizontes, eles se diferenciam em macrogametas (gametas femininos) e microgametas (gametas masculinos) onde, posteriormente o macrogameta é fecundado pelo microgameta, formando o oocisto, rompendo a célula intestinal e finalizando a fase endógena, após a liberação desse oocisto maduro nas excretas. Todo esse processo denomina-se gamogonia (fase sexuada). Por fim, a esporogonia ocorre externamente, onde o oocisto se torna infeccioso ao esporular no meio ambiente, mediante algumas condições determinantes de temperatura, umidade e oxigênio. Esse processo é caracterizado por uma meiose seguida de mitose, onde o produto é um conjunto de estruturas denominadas esporocistos contendo em seu interior os esporozoítos. (GRUBER, 2021).

É importante salientar que, os coccídeos possuem um ciclo direto (monoxênico), ou seja, não há hospedeiro intermediário e, são altamente resistentes, física e quimicamente, pois possuem uma parede com duas camadas principais, com composições distintas. Somente moléculas bem pequenas como água, amônia e brometo de metila atravessam a parede. O grau das lesões acarretadas por esse protozoário depende de alguns fatores como a carga parasitária, o estado imune da ave e a profundidade das lesões no epitélio. Como consequências das lesões, pode-se citar o encurtamento da altura das vilosidades intestinais, destruição das células epiteliais do intestino (fazendo com que a renovação das vilosidades seja impedida), perda da capacidade absorptiva do intestino, hemorragias e ainda servir como

porta de entrada para agentes secundários, como por exemplo para *Clostridium perfringens*, acarretando em piora do desempenho dos animais (KAWAZOE, 2000; GRUBER, 2021).

Os sinais clínicos da coccidiose variam conforme as espécies de coccídios presentes, sendo que, algumas espécies patogênicas causam diarreia que varia de mucoide a sanguinolenta, desidratação, penas arrepiadas, falta de apetite (causando anemia), despigmentação da pele e prostração, etc. (ALLEN; FETTERER, 2002). O diagnóstico deve ser realizado através de métodos como: necropsia de algumas aves, onde pode-se encontrar lesões típicas em regiões específicas do intestino; exame coproparasitológico, onde há a detecção de oocistos; flutuação em sal, no qual os oocistos tendem a acumular-se na parte superior da solução salina saturada, devido à pouca densidade dos mesmos; e análises morfológica dos oocistos, avaliando tamanho e forma (AMARAL, 2013).

Dentre as espécies citadas, a *E. máxima* pode ser considerada a mais imunogênica, ou seja, tende a provocar uma alta e grave resposta imune e possui moderada a severa patogenia (ALLEN; JENKINS; MISKA, 2005; SHARMAM, 2010), fazendo com que, haja elevada morbidade, queda no ganho de peso, diarreia, palidez, engrossamento das penas, anorexia e, mais raramente, mortalidade. (REID, LONG, MCDUGALD, 1984; ZULPO et al., 2007). Além disso, de acordo com os mesmos pesquisadores, o efeito causado por essa espécie está relacionado também, à absorção de xantofila e pigmentos carotenóides pelo intestino delgado, fazendo com que a coloração da pele seja afetada. (REID, LONG, MCDUGALD, 1984; ZULPO et al., 2007)

Segundo Tyzzer (1929), *E. maxima* se instala e acomete a região média do intestino delgado causando lesões hemorrágicas, mais especificamente na região do jejuno e íleo, podendo também causar algumas injúrias no duodeno. Vale ressaltar que, seu ciclo dura cerca de sete dias e o nome dessa espécie se deve ao grande tamanho dos seus oocistos. Eles são ovóides com parede lisa ou um pouco rugosa e apresentam duas camadas que lhe conferem alta resistência. Goodwin, Brown e Bounous (1998), ao avaliarem diferentes métodos de detecção para *E. maxima*, concluíram que, individualmente, o método de avaliação pelo escore de lesão não confere grande valor diagnóstico. Sendo assim, o grau de lesão histopatológico é o melhor método, seguido da contagem microscópica de oocistos.

A *E. acervulina* apresenta média patogenia, assim como a *E. maxima* e as espécies *E. brunetti*, *E. necatrix* e *E. tenella* são de alta patogenicidade. Quanto ao local de predileção, a *E. acervulina* se instala no duodeno e/ou jejuno. As lesões incluem várias manchas

esbranquiçadas, ovais ou alongadas na metade superior do intestino delgado. Já a *E. brunetti* tem preferência pelo íleo e reto, causando palidez, espessamento da mucosa e infecções graves, chegando a causar necrose coagulativa e descamação da mucosa. *E. necatrix* é encontrada no jejuno e ceco, suas lesões se apresentam na forma de pequenos pontos brancos, arredondados, brilhantes ou vermelhos de vários tamanhos. A *E. tenella* quando em alto grau de infecção pode causar acarretar altos níveis de mortalidade nas granjas, por causar Inflamação cecal com sangramento e espessamento da parede intestinal (VERMEULEN; SCHAAP; SCHETTERS, 2000).

### **2.1.1 Controle da coccidiose e mecanismos de ação**

Quanto aos métodos de controle da coccidiose pode-se dizer que é essencial manter estritas medidas de higiene e de biossegurança na granja para manter a concentração de oocistos a mais baixa possível. No entanto, a prevenção feita através de medidas de biossegurança não são consideradas suficientes, apesar de possuírem grande relevância. Sendo assim, as medidas preventivas atuais incluem predominantemente quimioterápicos, vacinas convencionais e outros medicamentos administrados profilaticamente na ração. Desde meados de 1950, o uso de anticoccidianos e a vacinação com oocistos vivos vêm sendo utilizados. (SHIVARAMAIA, 2014).

A estratégia de prevenção da coccidiose mais popular para a produção de frangos de corte nas últimas décadas tem sido a adição de anticoccidianos na ração (DALLOUL; LILLEHOJ, 2006 ; CHAPMAN et al., 2013 ). Estes, por sua vez, podem ser divididos em químicos e ionóforos. Os químicos, são também chamados de sintéticos e possuem mecanismos de ação bastante específicos, normalmente direcionados para o metabolismo dos parasitas, possuem ação enérgica sobre seu metabolismo e são utilizados com fins curativos ou preventivos (FERREIRA, 1999; CHAPMAN, 2001; ALLEN. FETTERER, 2002; McDOUGALD, 2003). Estas drogas podem ser coccidiostáticas e/ou coccidicidas e variam em seus efeitos específicos sobre o coccídeo, desde a interferência com o metabolismo mitocondrial até o antagonismo com vitaminas, fazendo com que haja uma competição pelo transporte e captação dessas vitaminas com os coccídios. Apesar de alcançarem boa eficiência, estes possuem capacidade para desenvolver resistência de modo rápido (ROCHA, 2023).

Segundo Allen e Fetterer (2002), os compostos sintéticos agem por: Inibição da respiração mitocondrial do parasita (Decoquinato, Clopidol); inibição da via do ácido fólico

(Sulfonamidas); inibição competitiva da captação de tiamina (Amprolium); ou ainda por um modo de ação não totalmente elucidado (Diclazuril, Halofuginona, Robenidina). O primeiro grupo age inibindo a respiração dos coccídios ao bloquear o transporte de elétrons em suas mitocôndrias (WANG, 1975), impedindo o desenvolvimento de esporozoítos (REID, 1973). O mecanismo de ação do segundo grupo está relacionado com a produção de ácido tetra-hidrofílico, o derivado ativo do folato e impedem a síntese do diidrofolato por interferir na reação da diidropteroato sintetase, bloqueando a conjugação da pteridina e do PABA (ácido para-aminobenzóico). A diidropteroato sintetase está presente apenas no parasita. E o terceiro modo de ação é por inibição competitiva da captação de tiamina. Estes, agem bloqueando completamente a absorção da tiamina do parasita e têm um efeito antagônico no suprimento de vitamina B1. Ao agir no metabolismo da tiamina, principalmente nos esquizontes de primeira geração e merozoítos, ocorre a deficiência de vitamina B1 e paralisação do organismo.

De acordo com pesquisas feitas por Gonzales (2001), os antibióticos do tipo ionóforos são os mais utilizados, pois apresentam um lento desenvolvimento de resistência. Eles atuam geralmente na fase inicial de vida das eimerias podendo ser considerados coccidiostáticos. Podem ainda ser divididos em três classes: neutros, formadores de canal e carboxílicos. Os neutros não são muito utilizados pois sua atividade antibacteriana não é muito eficaz. Os formadores de canal induzem à formação de pequenos poros na bicamada lipídica da membrana por onde os íons atravessam (PRESSMAN, 1976; NOGUEIRA, 2009). Já os ionóforos carboxílicos, também conhecidos como antibióticos poliésteres, são os mais utilizados atualmente, sendo que, os mais conhecidos são: lasalocida, monensina, salinomicina, narasina, maduramicina e semduramicina.

Os ionóforos são produzidos pela fermentação de *Streptomyces spp.* ou *Actinomadura spp.* e agem por meio de mecanismos gerais alterando o transporte de íons e perturbando o equilíbrio osmótico no parasita. Em geral, são definidos como agentes quelantes lipofílicos capazes de transportar cátions como sódio (Na<sup>+</sup>), potássio (K<sup>+</sup>), cálcio (Ca<sup>++</sup>) e magnésio (Mg<sup>++</sup>) através das membranas celulares do parasita (ANNUNZIATA et al., 2017). Os ionóforos conseguem penetrar facilmente nas paredes lipídicas dos coccídeos com os eletrólitos, por serem de natureza lipofílica. Estes, por sua vez, tentam expelir os eletrólitos que chegam para manter o equilíbrio osmótico, mas acabam ficando sem energia, as funções vitais das mitocôndrias são inibidas e a entrada de água, atraída pela alteração da

osmolaridade, pode levar à ruptura da membrana do parasita, culminando na sua morte (SILVA, 2012).

Podem ser: Ionóforos monovalentes (Monensina, Narasina, Salinomicina); Ionóforos glicosídicos monovalentes (Maduramicina, Semduramicina); Ionóforos divalentes (Lasalocida). Os Ionóforos monovalentes podem formar complexos lipídeo-solúveis com cátions sódio ( $\text{Na}^+$ ) e potássio ( $\text{K}^+$ ), enquanto ionóforos divalentes podem se ligar a cátions cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{+2}$ ) (RAIESKI, 2021). Estudos com monensina, salinomicina e lasalocida demonstraram que esses três ionóforos causam um aumento nos níveis de  $\text{Na}^+$  e uma diminuição nos níveis de  $\text{K}^+$  dentro das células, alterando a bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  na membrana citoplasmática. Assim, o influxo de  $\text{Na}^+$  excede a capacidade da célula do parasita de removê-lo, levando-o à morte. Ainda nesse sentido, outra pesquisa envolvendo lasalocida, monensina, narasina e salinomicina mostrou que o pré-tratamento de esporozoítos de *E. tenella* com esses compostos inibiu a capacidade de invasão da célula hospedeira pelos esporozoítos e, subsequentemente, a capacidade de desenvolvimento na célula hospedeira (SMITH; GALLOWAY; WHITE, 1981).

Existem ainda, os produtos mistos, estes consistem em algumas misturas de drogas, podendo ser a junção de compostos sintéticos e ionóforos, como nicarbazin/narasin ou ainda, dois compostos sintéticos como meticlorpindol/metilbenzoquato (SHIVARAMAIAH, 2014). Essas combinações têm como objetivo aproveitar o efeito sinérgico entre as duas classes de anticoccidianos. Além disso, as associações dessas moléculas demonstram alta eficácia no controle da coccidiose e são mais seguras para as aves e seres humanos, sendo amplamente utilizadas na produção (DINIZ, 2004).

Há várias décadas a vacinação também vem sendo investigada como uma estratégia de controle, mais adequada que os antibióticos. De acordo com Shivaramaiah (2014), as vacinas convencionais incorporam parasitas vivos ou atenuados como uma mistura de várias espécies, ou às vezes até mesmo várias cepas de *Eimeria*. As vacinas patogênicas contêm oocistos vivos esporulados de espécies patogênicas de *Eimerias sp.* e as vacinas atenuadas contêm oocistos vivos esporulados de linhagens atenuadas e/ou precoces, sendo menos patogênicas, garantindo maior segurança de uso, porém com maior custo. Ambas representam um controle da doença e induzem uma imunidade ativa nas aves. Como o sistema imune das aves não detecta diferenças antigênicas entre cepas de coccídeos resistentes ou não às drogas anticoccidianas, a resistência não é um problema. No entanto, caso a aplicação seja feita de

forma desigual há um risco de surto clínico, resultando em aves não imunizadas e aves expostas à superdosagem. Além disso, o tempo de conservação pode ser considerado curto (6 meses a 1 ano) e, mesmo que em baixa quantidade, as cepas de *Eimeria* causam algum grau de lesão na mucosa intestinal (BORGES, 2000).

## **2.2 Proibição da utilização dos antibióticos**

Desde a década de 1950 os antibióticos têm sido utilizados para melhorar o crescimento animal e reduzir as morbidades na cadeia produtiva (GUSTAFSON et al, 1997; GASKINS, 2002). A utilização de antimicrobianos melhoradores de desempenho demonstram uma melhoria no crescimento e eficiência alimentar de aves (BERTECHINI, 2021). No entanto, as preocupações dos consumidores de proteína animal estão crescendo, e estudos mais recentes vêm demonstrando algumas consequências do uso prolongado e gradual dessas substâncias na produção animal (SCHULZ E RADEMACHER, 2017).

A percepção do consumidor é que as aves produzidas sem antibióticos são superiores às aves criadas convencionalmente, apesar da falta de dados científicos de apoio. Há poucas evidências científicas que comprovem que o uso de antibióticos em animais de produção esteja contribuindo para os problemas de resistência a antibióticos que são relevantes para a medicina humana (MAGEE, 1999; PHILLIPS, 2004; COX, 2007). A maioria dos antibióticos que são utilizados como melhoradores de desempenho possuem baixa ou nenhuma absorção e não acumulam nos tecidos comestíveis (BERTECHINI, 2021). No entanto, muitas moléculas dos antibióticos utilizados não são metabolizadas completamente no organismo das aves e seus resíduos têm sido encontrados em amostras de solo e na água, esses resíduos no ambiente podem favorecer a ocorrência de microrganismos resistentes aos antibióticos (BLAIR et al., 2015).

Segundo Schulz e Rademacher (2017), a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA implementou a Orientação para a Indústria (GFI) nº 213, exigindo que os antibióticos com importância na medicina humana não sejam mais usados para promoção do crescimento ou eficiência alimentar em vacas, porcos, galinhas, perus e outros animais de alimentação. Esse mesmo movimento vem acontecendo no mundo todo. No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), ligada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicou, em dezembro de 2018, a proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento animal. Segundo a determinação que consta na Portaria nº 171 “O uso dos antimicrobianos tilosina, lincomicina, virginamicina, bacitracina e tiamulina com a finalidade

de aditivos melhoradores de desempenho em animais produtores de alimentos será proibido”.

A remoção desses aditivos levou ao aumento da incidência de certas doenças e problemas de desempenho animal, prejudicando a lucratividade da indústria de frangos de corte. De acordo com estimativas feitas pela National Research Council, a proibição dos antibióticos como melhoradores de desempenho leva a um aumento de 1,76% nos custos de produção, resultando em um aumento de custo para os consumidores de US\$2,20 per capita por ano. No entanto, esses resultados encontrados nos estudos podem não ser aplicáveis em todos os países ou em todas as indústrias de um país. Conforme descrito por MacDonald & Wang (2011); McBride (2008), a proibição do AGP afetaria os produtores de diferentes maneiras, alterando os resultados do impacto de acordo com a localização, tamanho da propriedade, arranjos contratuais e práticas de produção.

### **2.3 Saúde intestinal**

“Na área de produção animal o tema saúde intestinal é algo complexo, pois combina nutrição, microbiologia, imunologia e fisiologia” (ZAVARIZE, 2022). Nos últimos anos a ciência vem realizando significativas descobertas sobre a importância do intestino como órgão responsável pela promoção da saúde dos animais e sua relação com os demais sistemas do organismo das aves. Em suas pesquisas, Oliveira et al. (2017), evidenciaram que o bom desempenho zootécnico relaciona-se com a saúde intestinal ótima das aves. De acordo com Lunedo e Pedroso (2017), inúmeros estudos foram conduzidos com o propósito de identificar a composição da microbiota intestinal de aves e as alterações ocorridas com as diferentes práticas de manejo adotadas. O intestino é considerado o maior órgão neuroendócrino do corpo e contém um grande número de neurônios, hormônios intestinais e mensageiros secundários, com função de regular diversas funções fisiológicas do hospedeiro (NEUMAN et al., 2015). Além disso, ele fornece uma plataforma para o crescimento de uma microbiota diversa, que regula o desenvolvimento imunológico e a maturação intestinal, fornecendo metabólitos para a nutrição do hospedeiro (SARGEANT et al., 2014).

Pode-se dizer que a saúde intestinal (SI) se dá pelo equilíbrio dinâmico entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal, em que as características estruturais e funcionais da mucosa estejam preservadas (ITO et al., 2007). Um intestino saudável é necessário para que a ave desempenhe todos os processos fisiológicos inerentes ao seu organismo, expressando seu máximo potencial produtivo. Nesse sentido, estratégias nutricionais tornam-se uma ferramenta promissora para modular positivamente a microbiota intestinal de aves. Além

disso, essas modificações na microbiota também podem ser induzidas por aditivos zootécnicos (principalmente de equilibradores de microbiota) adicionados às rações, como por exemplo, os probióticos, prebióticos e simbióticos (SOUZA, 2020).

O trato gastrointestinal (TGI) das aves é dividido em papo, proventrículo, moela, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), intestino grosso (ceco, cólon e reto) e órgãos glandulares que não fazem parte do TGI, mas secretam substâncias importantes dentro dele (glândulas salivares, fígado e pâncreas). A porção mais longa é o intestino delgado, sendo o jejuno o responsável pela maior área de digestão e absorção dos nutrientes (BERTECHINI, 2021) Uma das principais características do intestino é a presença de vilosidades e de criptas em sua constituição. As projeções microscópicas presentes na mucosa intestinal são denominadas vilos, que por sua vez, são constituídas por três tipos celulares: enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas. Já as criptas são invaginações epiteliais na mucosa do intestino, responsáveis pelo potencial proliferativo deste tecido. Ambas as regiões, criptas e vilos, possuem especificidades em relação às células e suas funções (MAIORKA, 2004).

Os nutrientes são absorvidos pelos enterócitos e conduzidos por vasos sanguíneos presentes dentro das vilosidades. As células caliciformes apresentam-se em menor número e sua função é produzir muco, a mucina, que protege mecanicamente a mucosa do intestino contra entrada de patógenos, impossibilitando os mesmos de se fixarem na parede do órgão e iniciarem um processo infeccioso. As células enteroendócrinas têm como função acionar o pâncreas exócrino quando o alimento entra no intestino delgado (GUERRA, 2018). É importante ressaltar que, quando o pintinho nasce, ele não possui uma maturidade intestinal, apesar de já ser anatomicamente completo (MAIORKA, 2004). Sendo assim, é de suma importância que todos os ingredientes utilizados nas rações sejam devidamente balanceados, passem por um controle minucioso de qualidade e possuam alta digestibilidade para modular positivamente a microbiota intestinal, promovendo o bom funcionamento do sistema imunológico da ave (MARCHIZELI, 2022)

Um intestino saudável tem quatro funções primordiais, sendo elas: ser hospedeiro de microbiota comensal que controlam o crescimento de bactérias patogênicas; função imunológica, com a maior concentração de células inflamatórias encarregadas de controlar a principal via de contato com agentes infecciosos e parasitários; servir como barreira física, que em associação com o tecido imunológico da mucosa intestinal atua contra as infecções,

impedindo a aderência de micro-organismos e a translocação de bactérias para a via sistêmica; e por fim, mas não menos importante, absorção de nutrientes (ROBERTO, 2018). É notório que, no processo de produção, a integridade do trato gastrointestinal é a chave do sucesso, visto que o mesmo é responsável por digerir e absorver nutrientes, transformando grãos/cereais em proteína animal. Sendo assim, a saúde intestinal tem efeito direto na produtividade, bem-estar animal, segurança alimentar e no impacto ambiental (ZAVARIZE, 2022).

#### **2.4 Alternativas a utilização de anticoccidianos ionóforos na dieta de frangos**

Com a retirada dos anticoccidianos convencionais das rações é necessário adotar novos métodos de controle da coccidiose, para que não ocorra aumento nos custos de produção, utilizando programas que envolvam diferentes estratégias de manejo, nutrição, sanidade, bem como programas de biossegurança, com manejo eficiente e capacitação profissional. (CARDINAL, 2020). Pensando nisso, os nutricionistas animais vêm se adaptando para controlar os microrganismos patogênicos e contribuir para o crescimento saudável das aves, várias estratégias alternativas aos antibióticos vêm sendo investigadas a partir de diversas pesquisas (DAHIYA et al, 2006; ZAKERI, 2011; SEAL et al, 2013) com o objetivo de atender à crescente demanda por uma produção mais orgânica e sustentável.

Em geral, as pesquisas que estão sendo desenvolvidas são com vacinas, probióticos que competem com as eimerias, enzimas e outros artificios que promovem o aumento da resistência das aves e a modulação da microbiota, favorecendo as condições de saúde do trato gastrointestinal e o melhor desempenho dos animais (DUTRA, 2002). As vacinas, já citadas anteriormente, possuem um uso discreto frente ao uso de anticoccidianos, possivelmente devido a sua menor eficácia e maior custo (DALTON; MULCAHY, 2001), além do fato de causar lesão intestinal, mesmo que em menor intensidade. Porém, de acordo com Lillehoj (2000), a imunidade conferida pelas vacinas vivas de baixa dose e atenuadas é protetora, pois permite o desenvolvimento completo do ciclo do parasito estimulando todas as vias da resposta imune, principalmente a resposta imune celular, a qual promove efetivamente a proteção contra infecções subsequentes. Já a imunidade pelas vacinas recombinantes irá depender da proteína utilizada, sendo esta, de preferência, participante de etapas fundamentais no ciclo do parasito.

As enzimas exógenas são outra alternativa, possuem a função básica de melhorar a digestibilidade ileal, ganho de peso corporal e conversão alimentar. Esses produtos são geralmente uma combinação de amilases, xilanases e proteases. Seu uso resulta em maior

produção de ácidos graxos voláteis que reduzem a patogenicidade de *E. tenella* e *Salmonella spp* (BEDFORD, 2000; SOHAIL et al., 2003). Os probióticos, por sua vez, têm a função de manter a população microbiana intestinal normal e estimular o sistema imunológico dos animais. Como excluem competitivamente patógenos entéricos, como *E. coli*, *Salmonella* e *Clostridium perfringens* não afetam o desenvolvimento das bactérias benéficas (DARDI, 2020).

Os aditivos fitogênicos, comumente definidos como aditivos vegetais ou botânicos, representam um grupo de substâncias naturais, derivados de plantas, ervas e seus extratos, que podem apresentar efeitos positivos sobre a produção e a saúde dos animais, sendo uma estratégia promissora (SILVA, 2022). Os extratos de algumas plantas têm mostrado resultados extremamente promissores em termos de parâmetros zootécnicos, modulação imune e redução dos efeitos negativos de desafios patogênicos, especialmente com infecções entéricas. Além disso, são de fácil aplicação na alimentação animal e podem ser utilizados na forma sólida, seca, moída ou como extratos (brutos ou concentrados), podendo também ser utilizados como óleos essenciais (CALLAWAY, 2021).

Muitos fitogênicos atuam como agentes antimicrobianos e anti-inflamatórios com efeitos similares aos fármacos utilizados na produção animal, pois são compostos formados por uma mistura complexa de substâncias voláteis como os hidrocarbonetos terpênicos, os álcoois simples, os aldeídos, entre outros que são farmacologicamente ativos. Essa mistura de compostos ativos pode diminuir o desenvolvimento de resistência microbiana e reduzir o potencial de resíduos tóxicos nos produtos de origem animal, o que é uma grande vantagem. Naidoo (2008), relata que vários compostos bioativos derivados de plantas e produtos naturais (como saponinas, flavonoides, papaína, taninos, entre outros) parecem ter atividades anticoccidianas contra algumas espécies de *Eimeria* comumente encontradas em frangos de corte, os quais podem atuar em diferentes fases do ciclo de vida do protozoário (NAIDOO, 2008). Muitos desses compostos se ligam à superfície celular da *Eimeria*, alterando a estabilidade estrutural do parasita (ABBAS; COLWELL; GILLEARD, 2012).

#### **2.4.1 *Bidens pilosa***

Conhecida como picão preto, *Bidens pilosa* é uma espécie vegetal da família Asteraceae e possui diversas variedades como *B. pilosa* var. *radiata*, var. *menor*, var. *pilosa* e var. *bisetosa*. Considerada por muitos como erva daninha, é uma planta herbácea, ereta, com porte variando entre 20 e 150 cm e sua reprodução se dá exclusivamente por sementes. Seu

desenvolvimento é rápido com alta propagação e pode ser encontrada durante o ano todo em condições tropicais. Atualmente vem sendo relatada como útil no tratamento de mais de 40 (quarenta) distúrbios, como inflamações, distúrbios imunológicos, distúrbios digestivos, doenças infecciosas, síndrome metabólica, doenças gastrointestinais, protozoários e muitos outros (BARTOLOME, 2013) Mais recentemente, Yang (2015), demonstrou que a *Bidens pilosa* atua contra a coccidiose em aves, se mostrando promissora.

Chang et al., (2016), relataram melhor ganho de peso corporal e diminuição da conversão alimentar nos frangos alimentados com dietas que continham 0,5% de *B. Pilosa* quando comparado aqueles com dieta padrão, sem anticoccidianos. Além disso, elevou o número de probióticos intestinais e reverteu os danos causados por *E. tenella* aumentando o comprimento das vilosidades, diminuindo o comprimento das criptas e aumentando a proporção vilo-cripta nos cecos. O mesmo foi comprovado por Yang (2015), onde os efeitos protetores da dieta suplementada com *B. pilosa* foram avaliados em frangos infectados com *E. tenella*. Em doses de 0,5%, 1% e 5% da dieta, protegeu significativamente contra a coccidiose conforme medido pela redução na mortalidade, peso, excreção fecal de oocistos e lesão intestinal. A resistência também foi avaliada usando o índice anticoccidiano, e tudo indica que houve pouca ou nenhuma indução a resistência a *Eimeria*, sugerindo que *B. pilosa* pode servir como um novo anticoccidiano natural para *eimeria* com baixa/nenhuma resistência.

Conforme um compilado feito por Lima (2011), vários compostos foram identificados a partir desta planta, variando entre compostos alifáticos, flavonóides, terpenóides, fenilpropanóides, aromáticos, porfirinas, etc. No entanto, nem todas as classes de compostos encontrados em *B. pilosa* foram estudadas a fundo, necessitando de um exame mais aprofundado para compreender melhor seu mecanismo de ação. No entanto, a riqueza e complexidade dos fitoquímicos presentes em *B. pilosa* podem refletir a grande variedade de bioatividades que têm sido relatadas para esta erva. O que se sabe é que, em geral, seus mecanismos de ação incluem a regulação da digestão e absorção de nutrientes, modulação da microbiota intestinal, imunidade, entre outros (CHANG, 2016).

Yang (2019) ao explorar o modo de ação anticoccidiano de *B. pilosa*, relatou que os oocistos de *E. tenella* não foram mortos diretamente, porém interferiu no seu ciclo de vida, suprimindo a esporulação de oocistos, invasão de esporozoítos e maturação dos esquizontes. Além disso, *B. pilosa* aumentou a imunidade mediada por células T. Um dos três poliinois

potentes presentes em *B. pilosa* (Cytopiloyne) foi isolado e atuou contra a coccidiose em aves de maneira semelhante à própria *B. pilosa*. Usando uma estratégia dirigida por bioatividade, descobriu-se que a Cytopiloyne inibiu a entrada de esporozoítos nas células de forma mais eficaz do que a salinomicina, indicando ser o poliino mais ativo contra a coccidiose. Estes dados ilustram a potência anticoccidiana e o mecanismo de *B. pilosa* e um de seus compostos ativos, e fornecem uma base para o desenvolvimento de novos aditivos fitoterápicos para coccidiose aviária.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local, aves, instalações e equipamentos**

O ensaio experimental foi conduzido nas dependências do Centro de Pesquisa em Tecnologia Avícola (CPTA/DATA), localizado na BR 265, Km 344, no município de Lavras, Minas Gerais.

Foram utilizados 720 pintos de corte Cobb-500 machos de um dia de idade provenientes de incubatório comercial, devidamente vacinados contra as doenças de Marek e Gumboro (vetorizada).

O sistema utilizado foi o de cama contendo maravalha nova, com oito centímetros de espessura. O aquecimento dos pintainhos foi realizado por aquecedores a gás com controle automático de temperatura. O galpão onde as aves foram criadas dispõe de cortinas laterais internas e externas, forro no teto, ventiladores e termômetros para a manutenção e registro da temperatura do ambiente de acordo com a idade, indicada no manual da linhagem. A ração foi fornecida na forma farelada em comedouros tubulares, sendo *ad libitum* ração e água (bebedouros tipo nipple) durante todo o período experimental.

#### **3.2 Delineamento experimental, tratamentos e período de desafio por Eimerias**

Os animais foram distribuídos em 48 parcelas experimentais (2,0 x 0,8m) contendo 15 aves cada. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e oito repetições cada. Os tratamentos experimentais estão apresentados na Tabela 1. O anticoccidiano ionóforo utilizado foi a salinomicina sódica na dosagem de 60 ppm de princípio ativo. Os acessos aos boxes foram realizados com o uso de isolantes nos calçados e mãos (propés e plásticos descartáveis).

**Tabela 1.** Tratamentos experimentais\*

T1	Controle positivo (CP): Com salinomicina e sem extrato de <i>Bidens pilosa</i>
T2	Controle negativo (CN): Sem salinomicina e sem extrato de <i>Bidens pilosa</i>
T3	Extrato de <i>Bidens pilosa</i> de 1 a 42 dias – 150 g/T
T4	Extrato de <i>Bidens pilosa</i> de 1 a 42 dias – 250 g/T
T5	Extrato de <i>Bidens pilosa</i> de 1 a 42 dias – 350 g/T
T6	Salinomicina até 21 dias (60 g/T) e Extrato de <i>Bidens pilosa</i> de 22 a 42 dias (250 g/T)

\*Todas as aves foram desafiadas com inóculo de Eimeria.

Do autor, 2023.

O período de desafio por eimerias se deu no dia 14 do experimento, onde todas as aves foram inoculadas com 1 ml de solução do inóculo contendo os oocistos esporulados de *E. maxima* ( $8 \times 10^4$ ). O laboratório fornecedor do inóculo informou a concentração do inóculo para calcular a concentração de inoculação por ave. As aves foram inoculadas individualmente com seringa dosadora especial com cateter para introdução da solução.

O produto testado é considerado um aditivo aromatizante destinado a todas as espécies animais. Sua composição básica conta com Extrato de Yucca, Extrato de Feno Grego, Ácido Sórbico, Ácido Propiônico, Sepiolita e Dióxido de Silício (Silica). Os níveis de garantia do produto são: Extrato de Yucca (Mín) 165,00g/kg e Extrato de Feno Grego (Mín) 520.00g/kg.

A dieta experimental foi à base de milho e de farelo de soja (Tabela 2), formulada de acordo com as recomendações de Bertechini (2021), com programa alimentar de três rações distribuídas nas fases de 1 a 21 dias (Inicial), de 22 a 35 dias (Crescimento) e 36 a 42 dias (Final). Os macro e microingredientes foram pesados e homogeneizados em misturador próprio de acordo com sua quantidade e as rações foram processadas no próprio CPTA/DATA.

**Tabela 2.** Composição das rações basais para as fases inicial, crescimento e final.

Ingredientes	Inicial	Crescimento	Final
Milho (7,88%)	56,886	66,141	69,249
Farelo de Soja (45%)	37,893	28,934	25,000
Óleo de soja	2,000	1,856	2,916
Fosfato bicálcico	1,050	1,030	0,785
Calcário	0,867	0,717	0,650
Sal	0,471	0,286	0,288
Bicarbonato de Sódio	0,000	0,200	0,200
PX.Mineral <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100
PX.Vitamina <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100
DL- Metionina	0,301	0,287	0,283
L-Lisina	0,171	0,209	0,268
L-Treonina	0,051	0,030	0,051
Fitase, 10.000 FTU/g	0,010	0,010	0,010
Inerte (tratamentos)	0,100	0,100	0,100
<b>Total</b>	<b>100,000%</b>	<b>100,000%</b>	<b>100,000%</b>
<b>Composição Nutricional</b>			
PB (%)	21,900	18,660	17,200
EM(Kcal/kg)	2950,000	3050,000	3150,000
Ca (%)	0,850	0,780	0,760
Pdisp (%)	0,450	0,400	0,380
Lis Dig (%)	1,200	1,020	0,970
Met+cis Dig (%)	0,888	0,800	0,760
Treo Dig (%)	0,792	0,662	0,630

<sup>1</sup> Suplementação por quilograma de ração: vitamina A, 12.000 UI; vitamina D3, 2.500 UI; vitamina E, 30 UI; vitamina B1, 2 mg; vitamina B6, 3 mg; pantotenato de cálcio, 10 mg; biotina, 0,07 mg; vitamina K<sub>3</sub>, 3 mg; ácido fólico, 1 mg; ácido nicotínico, 35 mg; cloreto de colina, 100 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 15 µg; selênio, 0,300 mg. <sup>2</sup> Suplementação por kg de ração: manganês, 80 mg; ferro, 50 mg; zinco, 50 mg; cobre, 10 mg; cobalto, 1 mg; iodo, 1 mg. Do autor, 2023.

### 3.3 Medidas de avaliação

No início e ao final de cada fase, 21, 35 e 42 dias, as aves e sobras de ração foram pesadas para posterior cálculo de consumo de ração médio, ganho de peso médio e conversão alimentar. O consumo de ração foi calculado pela diferença entre a quantidade de ração fornecida no início do período e a sobra no final do período. O ganho de peso foi calculado pela pesagem das aves subtraindo o peso final pelo peso inicial. A mortalidade das aves foi monitorada diariamente e, quando constatada, realizou-se o cálculo para correção da

conversão alimentar.

Aos 21(vinte e um) dias de idade (seis dias após a inoculação), uma ave por parcela experimental foi eutanasiada para realização do escore de lesão intestinal. As lesões macroscópicas de coccidiose foram graduadas de 0(zero) a 4(quatro), utilizando-se a metodologia adaptada descrita por Johnson e Reid (1970), levando em consideração a quantidade de petéquias, quantidade de muco sanguíneo, grau de espessamento e inchaço da porção média do intestino delgado, sendo: grau 0 (zero) ausência de lesões; grau 1(um) presença de petéquias dispersas na serosa e/ou pequena quantidade de muco alaranjado; grau 2(dois) numerosas petéquias, podendo ou não haver muco alaranjado, grau 3(três) quando a parede intestinal apresenta espessamento e superfície mucosa áspera, além de coágulos sanguíneos e muco; e grau 4 (quatro) parede intestinal espessada e embalonada em quase toda a extensão, com presença de sangue digerido e lesões mais acentuada.

A contagem dos oocistos (OPG) foi realizada através da técnica de flutuação verificando-se a ausência ou presença de oocistos nas amostras coletadas e a contagem propriamente dita, realizada com o auxílio da câmara de Neubauer. Para isso, foram realizadas coletas de cama e excretas em diferentes pontos da cama de maravalha, obtendo-se um pool de amostras. As mesmas foram acondicionadas em sacos plásticos limpos para encaminhamento ao Laboratório onde as análises foram realizadas.

Para a determinação do rendimento de carcaça e cortes comerciais, ao final do período experimental (42 dias de idade), duas aves representantes do peso médio de cada parcela experimental ( $\pm 5\%$ ) foram selecionadas, pesadas e submetidas a jejum alimentar de seis horas, sendo insensibilizadas e sacrificadas por decapitação entre os ossos occipital e atlas utilizando-se faca previamente esterilizada. A carcaça (sem vísceras, pescoço e pés), a gordura abdominal e as partes separadas da carcaça (peito, coxas, sobrecoxas, asas e dorso) foram pesadas para obtenção dos rendimentos. O rendimento de carcaça foi calculado em relação ao peso vivo da ave antes do abate  $[(\text{Peso Carcaça}/\text{Peso Vivo}) \times 100]$ . O rendimento das partes (peito, asas, coxas e sobrecoxas) foi determinado em relação ao peso da carcaça  $[(\text{Peso Parte}/\text{Peso Carcaça}) \times 100]$ .

A integridade e a capacidade absorptiva da parede intestinal foram observadas por meio da coloração sérica com o uso de cantaxantina na ração. A coloração sérica foi realizada com soro em leitura de absorbância em calorímetro ELISA no comprimento de onda de 492 nm. Foram confeccionadas lâminas para avaliação da altura das vilosidades, profundidade da

cripta e a relação vilo/cripta na porção média do jejunum e íleo. As medidas da altura das vilosidades da ponta da vilosidade à junção vilosidade-cripta e a profundidade da cripta da junção vilo-cripta ao limite inferior da cripta foram registradas como a média de 15 campos para cada amostra. Após o abate, uma porção do intestino foi retirada e fixada em formalina a 10% e, posteriormente, os tecidos foram cuidadosamente embebidos em parafina e cortados em pelo menos seis secções no micrótomo rotativo do tipo Minolta da LEICA®, ajustado para 5µm (micrômetros). Em seguida, as amostras foram fixadas em lâminas de vidro e coradas com hematoxilina e eosina. As lâminas foram avaliadas e fotomicrografadas em microscópio óptico de luz (Olympus BX53®) acoplado a câmera fotográfica digital (Olympus DP73), com auxílio do software cellSens Dimension®.

### **3.3 Análises laboratoriais e avaliação estatística**

As análises laboratoriais foram realizadas nos Laboratórios de Pesquisa Animal do DZO, de Parasitologia do Departamento de Medicina Veterinária e análises específicas no Centro de Análises e Prospecção Química do Departamento de Química da UFLA.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) dos dados utilizando o pacote computacional SISVAR (2016). As comparações de médias foram feitas utilizando o teste Tukey ao nível de 5% de significância.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Desempenho**

Os resultados de desempenho acumulados das aves para as fases de 1 a 21 dias e de 1 a 35 dias de idade estão apresentados na Tabela 3. Considerando a fase de 1 a 21 dias de idade, verifica-se que o tratamento com salinomicina na concentração de 60 ppm, possibilitou o maior consumo de ração ( $P < 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos. Com relação ao ganho de peso, observa-se também maior ganho ( $P < 0,05$ ) para o tratamento com o uso da salinomicina (CP), sendo que os outros tratamentos com extrato de *Bidens pilosa* apresentaram ganhos de peso semelhantes, independentemente do nível utilizado na ração. Por outro lado, verifica-se que o tratamento controle negativo (CN) sem aditivos, resultou no pior ganho de peso pelas aves ( $P < 0,05$ ), o que já era de se esperar, visto que as eimerias causam lesões intestinais que resultam em menor ganho de peso, aumento de mortalidade e aumento de infecções secundárias.

A conversão alimentar também foi influenciada significativamente ( $P<0,05$ ) nessa fase pelos tratamentos estudados. A inoculação das eimerias ocorreu no 14º dia de idade das aves. Percebe-se que conseguiu influenciar no desempenho das aves em apenas 7 dias após o procedimento. Isso também pode ser constatado em diversas pesquisas que demonstram que as lesões são observadas após 5 a 8 dias de infecção, na fase sexuada do ciclo evolutivo da *Eimeria* (RAMA, 2016).

Na fase de 1 a 35 dias de idade, os efeitos dos tratamentos sobre o consumo de ração foram semelhantes aos da fase anterior, sendo que para ganho de peso, já podem ser verificados os efeitos do uso dos níveis do extrato de *Bidens pilosa*. O uso do extrato de *Bidens pilosa* a partir de 250 g/t tem efeito semelhante ao uso da salinomicina, sendo que com o menor nível de uso (150g/t) observa-se menor ganho de peso ( $P<0,05$ ). Também pode ser observado que a inoculação de eimerias e o não uso de aditivo anticoccidiano, resulta em pior ganho de peso das aves ( $P<0,05$ ). Isso nos indica que a dosagem de 250g/t de *Bidens pilosa* pode ser um bom substituto à salinomicina em dietas para frangos de corte.

**Tabela 3.** Desempenho das aves nas fases de 1 a 21 e 1 a 35 dias de idade de acordo com os tratamentos experimentais\*.

Tratamentos	Consumo, kg	Ganho peso, kg	CA(kg/kg)
Fase de 1 a 21 dias de idade			
1.Controle positivo	1,206 a	1,005 a	1,200 a
2.Controle negativo (CN)	1,025 b	0,776 c	1,326 b
3.CN+150 g/tonelada	0,986 b	0,801 b	1,237 a
4. CN+250 g/tonelada	1,067 b	0,833 b	1,280 a
5.CN+350 g/tonelada	1,011 b	0,792 b	1,276 a
6.1-21d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	0,991 b	0,785 b	1,262 a
CV,%	5,110	6,230	6,170
P<	0,000	0,000	0,015
Erro padrão da média	0,020	0,026	0,029
Fase de 1 a 35 dias de idade			
1.Controle positivo	3,358 a	2,350 a	1,429 a
2.Controle negativo (CN)	3,155 b	1,999 c	1,579 b
3.CN+150 g/tonelada	3,112 b	2,184 b	1,425 a
4. CN+250 g/tonelada	3,227 b	2,214 ab	1,458 a
5.CN+350 g/tonelada	3,131 b	2,244 ab	1,396 a
6.1-21 d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	3,067 b	2,202 ab	1,394 a
CV,%	3,850	3,81	3,800
P<	0,003	0,0033	0,0002
Erro padrão da média	0,0324	0,0322	0,0255

\*Médias com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ). Do autor, 2023.

Os resultados acumulados de desempenho considerando toda a fase de criação das aves estão apresentados na Tabela 4. O consumo de ração pelas aves apresentou comportamento semelhante desde o início da criação onde a maior ingestão ( $P < 0,05$ ) foi observada com o uso da salinomicina sódica.

Com relação ao ganho de peso, os resultados indicam que o uso de 250 g/t do extrato de *Bidens pilosa* atende as necessidades de controle da eimeriose, semelhante ao uso da salinomicina, não sendo necessário nível superior de suplementação considerando o ganho de peso das aves. O mesmo foi observado por Chang (2016), onde as aves suplementadas com *B. pilosa* tiveram melhor ganho de peso do que aqueles com dieta padrão. Essa melhora pode ser atribuída à capacidade de *B. pilosa* de controlar a infecção por *Eimeria* e, até certo ponto, induzir ganho de peso em aves. Os resultados de ganho de peso com o uso de 250 g/t, 350 g/t e a combinação salinomicina + extrato de *Bidens pilosa*, foram semelhantes em ganho de peso ( $P > 0,05$ ).

Por outro lado, a conversão alimentar indicou melhores efeitos com o uso de 350 g/t do extrato de *Bidens pilosa* bem como o uso de salinomicina até 21 dias de idade e de 22 dias até o final, com o uso do extrato de *Bidens pilosa*. A conversão alimentar com esses dois tratamentos foi melhor do que o controle positivo com o uso de salinomicina o tempo todo da criação ( $P < 0,05$ ). Assim, o melhor resultado geral de desempenho considerando ganho de peso e conversão alimentar é observado com a combinação da salinomicina até 21 dias e o extrato de *Bidens pilosa* após essa fase e o uso de 350 g/ton do extrato de *Bidens pilosa*.

**Tabela 4.** Desempenho das aves na fase total de criação de acordo com os tratamentos experimentais.

Tratamentos	Consumo, kg	Ganho peso, kg	CA
Fase de 1 a 42 dias de idade			
1. Controle positivo	4,762 a	3,023 a	1,576 b
2. Controle negativo (CN)	4,469 b	2,609 c	1,715 d
3. CN+150 g/tonelada	4,462 b	2,896 b	1,542 bc
4. CN+250 g/tonelada	4,533 b	2,971 ab	1,527 bc
5. CN+350 g/tonelada	4,459 b	3,006 a	1,484 a
6. 1-21 d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	4,341 b	2,994 a	1,450 a
CV,%	5,110	2,850	3,680
P<	0,000	0,000	0,0002
Erro padrão da média	0,0204	0,03158	0,0218

Do autor, 2023.

#### 4.2 Rendimento de carcaça

Os resultados de rendimento de carcaça aos 42 dias de idade das aves estão apresentados na Tabela 5. As medidas de rendimento de carcaça e cortes não foram influenciadas significativamente ( $P>0,05$ ) pelos tratamentos estudados. Indicando que a *Bidens pilosa* não teve efeito sobre essas medidas de qualidade de características de carcaça.

**Tabela 5.** Rendimentos de carcaça (RC), de peito (RP), de coxa + sobrecoxa (|RV+SC), de asa (RA) e gordura abdominal (GA) de acordo com os tratamentos aos 42 dias de idade das aves.

Tratamentos	RC,%	RP,%	RC+SC,%	RA,%	GA,%
1. Controle positivo	73,020 a	31,730	20,090	7,410	1,350
2. Controle negativo (CN)	69,930 b	29,880	19,530	7,280	2,550
3. CN+150 g/tonelada	70,720 b	29,950	20,030	7,290	1,960
4. CN+250 g/tonelada	69,970 b	28,870	20,230	7,400	2,050
5. CN+350 g/tonelada	71,500 b	30,900	19,630	7,260	1,560
6. 1-21d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	70,720 b	29,880	20,250	7,410	2,090
CV,%	3,280	7,160	7,350	5,760	15,230
P<	0,0206	0,1381	0,9397	0,9730	0,5463

\*Médias seguidas de letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

Do autor, 2023.

#### 4.3 Morfologia intestinal

Os resultados de morfologia intestinal determinados aos 42 dias de idade das aves estão apresentados nas Tabelas 6 e 7, para jejuno e íleo, respectivamente. Foram observadas

diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos nas medidas de altura de vilos do jejuno e íleo. De maneira geral, os dados indicam que o uso dos anticoccidianos melhoram a altura das vilosidades e reduziram a profundidade das criptas, indicando melhor relação entre a altura de vilosidade e a profundidade das criptas. Os menores valores para altura de vilosidades foram observados para o tratamento controle negativo. Quanto a profundidade de cripta, não foi observado diferenças estatísticas ( $P > 0,056$ ). De qualquer forma, existe clara evidência nas médias com melhor qualidade intestinal com o uso dos anticoccidianos, seja ionóforo ou natural.

**Tabela 6.** Altura de vilosidades (AV,  $\mu\text{m}$ ), profundidade de cripta (PC,  $\mu\text{m}$ ) e relação AV:PC do jejuno de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Tratamentos	AV, $\mu\text{m}$	PC, $\mu\text{m}$	AV:PC
1. Controle positivo	965 a	144	6,700
2. Controle negativo (CN)	695 b	186	4,270
3. CN+150 g/tonelada	852 a	178	4,780
4. CN+250 g/tonelada	893 a	143	6,240
5. CN+350 g/tonelada	905 a	141	6,420
6. 1-21 d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	932 a	138	6,740
CV,%	12,367	13,660	10,680
P – valor	0,048	0,056	0,068

Do autor, 2023.

**Tabela 7.** Altura de vilosidades (AV,  $\mu\text{m}$ ), profundidade de cripta (PC,  $\mu\text{m}$ ) e relação AV:PC do íleo de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Tratamentos	AV, $\mu\text{m}$	PC, $\mu\text{m}$	AV:PC
1. Controle positivo	785 a	158	4,970
2. Controle negativo (CN)	525 b	195	2,690
3. CN+150 g/tonelada	605 a	168	3,610
4. CN+250 g/tonelada	588 a	152	3,870
5. CN+350 g/tonelada	709 a	143	4,950
6. 1-21 d salinomicina e 22-42 dias 250g/tonelada	695 a	149	4,660
CV,%	15,550	19,250	18,450
P – valor	0,033	0,430	0,650

Do autor, 2023.

#### 4.4 Escore de lesão, contagem oocistos, células caliciformes e coloração sérica

Os resultados para escore de lesão do jejuno, OPG, número de células caliciformes por vilo e coloração sérica estão apresentados na tabela 8. O escore de lesão ao nível de jejuno, indica efeitos da eimeria máxima inoculada. O tratamento controle negativo apresentou maior escore de lesão ( $P < 0,05$ ), como já era esperado, como observado por Yang (2015), suas pesquisas apontam que a *E. tenella* causa lesões cecais mais grosseiras no intestino de galinhas não medicadas conforme evidenciado por uma pontuação de lesão próxima a 4. Já nos tratamentos com Maduramicina e *B. pilosa* em doses diferentes diminuiu significativamente o dano cecal das aves infectadas conforme mostrado pelos escores de lesão bruta de 2-3.

O número de oocistos de eimerias por grama, as células caliciformes por vilo e a coloração sérica não foram influenciados significativamente ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos estudados. Esse resultado é contrastante com os obtidos por Yang (2015), onde as aves alimentadas com dieta de *B. pilosa* infectadas tiveram significativamente menos oocistos por grama de fezes do que aquelas do grupo controle. Yang também relata em outra pesquisa feita em 2019 que, as aves infectadas, alimentadas com salinomicina ou com *Bidens pilosa* em diferentes concentrações tiveram OPG significativamente menor que o grupo sem anticoccidiano.

Por outro lado, as médias apresentadas indicam tendências interessantes onde o tratamento controle negativo sempre apresentando maior valor na contagem de OPG, menores contagens de células caliciformes ao nível de jejuno e íleo e menor valor para a coloração sérica, indicando menor eficiência na absorção dos nutrientes, sendo refletido também no pior desempenho observado para esse tratamento. Isso pode ser explicado graças aos danos causados pela coccidiose, pois como já descrito, estes protozoários, ao se multiplicarem nas células intestinais, causam lesões na mucosa do trato gastrointestinal, alterando os processos digestórios das aves e assim, comprometendo a absorção dos nutrientes (REVOLLEDO; FERREIRA, 2005).

Os valores de coloração sérica foram influenciados significativamente ( $P < 0,05$ ) pelos tratamentos estudados, sendo o menor valor apresentado para o tratamento sem anticoccidiano, indicando pior saúde intestinal e menor capacidade absorptiva.

**Tabela 8.** OPG (35 dias), número de células caliciformes por vilosidade e coloração sérica (42 dias) de acordo com os tratamentos estudados.

Tratamentos	Escore lesão jejuno 21 dias	OPG/g 35 dias	Células Caliciformes/vilosidade		Coloração sérica Absorb
			Jejuno	Íleo	
1. Controle positivo	0,550 b	4529	155	93	3,55 a
2. Controle negativo (CN)	1,530 a	9309	135	72	2,10 b
3. CN+150 g/tonelada	0,680 b	6324	160	85	3,45 a
4. CN+250 g/tonelada	0,450 b	5270	159	90	3,86 a
5. CN+350 g/tonelada	0,520 b	4843	178	86	3,98 a
6. 1-21d salinomicina e 22-42 dias 250g/ton.	0,430 b	4609	167	96	3,48 a
CV,%	9,550	25,660	17,550	12,560	6,550
P – valor	0,046	0,955	0,456	0,075	0,050

\*Médidas com letras diferentes na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05)

Do autor, 2023.

## 5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, o extrato de *Bidens pilosa* tem efeito anticoccidiano, assim como tem efeito sobre a saúde intestinal das aves.

À medida que se elevou o nível de extrato de *Bidens pilosa* na ração, melhorou o desempenho, sendo que a partir de 250 g/tonelada os resultados foram semelhantes ao uso da salinomicina.

A combinação do uso de salinomicina até 21 dias de idade e de 22 dias até o abate com 250g/T do extrato de *Bidens pilosa* resulta em ótimo resultado, semelhante ao uso do ionóforo o tempo todo da criação.

O desafio com *Eimeria maxima* ao nível de  $8 \times 10^4$  foi efetivo em prejudicar o desempenho e a saúde intestinal dos frangos de corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, R. Z.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J. Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 2, p. 203-215, 2012.

ABPA. Relatório Anual 2023. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Disponível em: <<https://abpa-br.org/abpa-relatorio-anual/>>. Acesso em: 17 Jun 2023.

- 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 Microb Rev* 2002; 15: 58-65
- AMARAL, P.; OTUTUMI, L. Prevalência da coccidiose em frangos de corte em uma integração avícola da região Nordeste do Estado do Paraná, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.
- ANNUNZIATA, L. et al. Determination of regulatory ionophore coccidiostat residues in feedstuffs at carry-over levels by liquid chromatography-mass spectrometry. *PLOS ONE*, v. 12, n. 8, p. e0182831, 9 ago. 2017.
- BARTOLOME, A. P. et al. *Bidens pilosa* L.(Asteraceae): botanical properties, traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2013, 2013.
- BEDFORD, M.. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: implications and strategies to minimise subsequent problems. **World's Poultry Science Journal**, v. 56, n. 4, p. 347-365, 2000.
- BERTECHINI, A. G. Nutrição de Monogástricos, 3. ed. Lavras: Ed. UFLA, 375 p., 2021.
- BORGES, A. Vacinas- Método Natural de Proteção- Para Coccidiose. **II Simpósio de Sanidade Avícola**, v. 14, p. 76-78, 2000.
- BRITO, L. S. Infecção experimental com oocistos esporulados de *Eimeria* máxima (apicomplexa: eimeriidae) em frango de corte. 86 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e aplicada)- Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.
- CALLAWAY, T. R. et al. Alternativas aos antibióticos: um simpósio sobre os desafios e soluções para a saúde e produção animal. 2021.
- CARDINAL, K.; DA SILVA PIRES, PG.; RIBEIRO, AML. Promotor de crescimento na produção de frangos e suínos. **Pubvet**, v. 14, n. 03, 2020.
- CERVANTES, H. M. "Avicultura sem antibióticos: é sustentável?" **Journal of Applied Poultry Research** v.24., n.1, pág 91-97, 2015.
- CHANG, C. L.T. et al. Beneficial effect of *Bidens pilosa* on body weight gain, food conversion ratio, gut bacteria and coccidiosis in chickens. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0146141, 2016.
- CHAPMAN, H. D. et al. A selective review of advances in coccidiosis research. **Advances in parasitology**, v. 83, p. 93-171, 2013.
- CHAPMAN, H.D. et al. Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. *International Journal for Parasitology*, v.32, p.617-629, 2002.
- CONWAY, D. P.; MCKENZIE, M. E. Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. [s.l: s.n.].

- COX J.R, L, A.; POPKEN, D. A.; CARNEVALE, R.. Quantificação dos riscos à saúde humana causados por antimicrobianos animais. **Interfaces** , v. 37, n. 1, pág. 22-38, 2007.
- DAHIYA, J.P. et al. Estratégias potenciais para o controle da enterite necrótica em frangos de corte na era pós-antibiótica. **Ciência e Tecnologia da Alimentação Animal** , v. 129, n. 1-2, pág. 60-88, 2006.
- DALLOUL, R. A.; LILLEHOJ, H. S. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert review of vaccines**, v. 5, n. 1, p. 143-163, 2006.
- DALTON, J. P.; MULCAHY, G. Parasites vaccines – a reality? **Veterinary Parasitology, Amsterdam**, v. 98, n. 1-3, p. 149-167, 2001.
- DANFORTH H. In: Simpósio Internacional sobre Coccidiose Aviária II, Foz do Iguaçu, Brasil. Proceedings, FACTA, 1999, p. 45-52.
- DARDI M. Vacinação contra coccidiose e probióticos: dois aliados para a boa saúde intestinal. **Revista aviNews Brasil**, 2020.
- DE ZEN, S. et al. Evolução da avicultura no Brasil. **Informativo CEPEA, Análise trimestral, custos de produção da avicultura. Ano**, v. 1, 2019.
- DIARRA, M. S.; MALOUIN, Francisco. Antibióticos em produções avícolas canadenses e alternativas antecipadas. **Fronteiras em microbiologia** , v. 5, p. 282, 2014.
- DIAZ CARRASCO, J. M.; CASANOVA, Natalia A.; FERNÁNDEZ MIYAKAWA, Mariano E. Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection?. **Microorganisms**, v. 7, n. 10, p. 374, 2019.
- DINIZ, G. S.; Uso de salinomicina e semduramicina em diferentes concentrações sobre o desempenho e controle da eimeriose em frangos de corte. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2008.
- DUTRA M. J. Influência dos anticoccidianos ionóforos sobre o grau de umidade no músculo peitoral de frangos de corte. UFPR, 2002.
- ENTZEROTH, R, et al. Structure and function of the parasitophorous vacuole in Eimeria species. **International Journal for Parasitology**, v. 7, p. 1015-1018, 1998.
- FEDDERN, V; BACILA, D M.; CARON, L. Uso racional de anticoccidianos na avicultura e estratégias para minimizar seu uso na produção animal. **Avicultura Industrial.com.br**. n.5, pág 16-22, 2016.
- FERNANDEZ, F. et al. A dieta influencia a colonização de Campylobacter jejuni e a distribuição de carboidratos mucina no trato intestinal de galinhas. **Ciências da Vida Celular e Molecular CMLS** , v. 57, p. 1793-1801, 2000.
- GASKINS, RH; COLLIER, CT; ANDERSON, DB Antibióticos como promotores de crescimento: modo de ação. **Biotechnologia animal** , v. 13, n. 1, pág. 29-42, 2002.

- GONZALES, E; Aditivos Para Rações de Aves e Suínos, Apostila. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ-UNESP Campus de Botucatu. Botucatu – SP, 2001
- GOODWIN, M. A.; BROWN, J.; BOUNOUS, D. I. Use of microscopic lesion scores, gross lesion scores and oocyst count scores to detect *Eimeria maxima* in chickens. *Avian Pathology*, v.27, p.405-08, 1998.
- GRUBER, A. Apicomplexa: Coccidia Eimeria. **Instituto de Ciências Biomédicas Universidade de São Paulo**, 2021, 59 slides. Disponível em: <[https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/6775746/mod\\_resource/content/9/Eimeria\\_2021.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/6775746/mod_resource/content/9/Eimeria_2021.pdf)>. Acesso em: 22 jun 2023
- GUERRA, R. R. Morfofisiologia do sistema digestório de não ruminantes. **Produção de não ruminantes**. p. 225-246. 2018
- GUSTAFSON, R. H.; BOWEN, RE Uso de antibióticos na pecuária. **Jornal de microbiologia aplicada** , v. 83, n. 5, pág. 531-541, 1997.
- ITO, N. M. K., et. al. Saúde intestinal em frangos de corte. **Circular Técnica Aviagen Brasil**. (2007). Disponível em: [http://en.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Portuguese/novembro2007-saudeintestinalemfrangosdecorte.pdf](http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Portuguese/novembro2007-saudeintestinalemfrangosdecorte.pdf). Acesso em 04 jun 2023.
- JAMES, S. Thiamine uptake in isolated schizonts of *Eimeria tenella* and the inhibitory effects of amprolium. *Parasitology*, 80: 313–322. 1980.
- JENKINS, M.C.; MISKA, K.B. Cross protection studies with *Eimeria maxima* strains. **Parasitology Research**, v.97, p.179–185, 2005.
- KAWAZOE U. Coccidiose In Doença das Aves; Campinas, FACTA, 2000:p391-405.
- KERS, J. G. et al. Hospedeiro e fatores ambientais que afetam a microbiota intestinal em frangos. **Fronteiras em microbiologia** , v. 9, p. 235, 2018.
- RAIESKI, A. Comparação entre as classes de anticoccidianos. **Zoetis Brasil**, 2021. Disponível em: <<https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/72-compara%C3%A7%C3%A3o-entre-as-classes-de-anticoccidianos.aspx>> Acesso em: 22 jun 2023.
- LIMA, F. et al. Compilation of secondary metabolites from *Bidens pilosa* L. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1070-1102, 2011.
- LUNEDO, R.; PEDROSO, A. A. Microbiota intestinal: a microbiota intestinal e seus efeitos sobre a fisiologia da ave. **Fisiologia das aves comerciais**. (cap. 29, p.1-16). 2017
- MACDONALD, JM; WAN, S.-L. Antibióticos subterapêuticos anteriores: o impacto nos frangos de corte operações de crescimento. **Perspectivas e Políticas econômicas aplicadas**, 33(1), 79–98. 2011.
- MAGEE, JT et al. Prescrição de antibióticos e resistência a antibióticos na prática comunitária: estudo retrospectivo, 1996-8. **Bmj** , v. 319, n. 7219, pág. 1239-1240, 1999.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, v. 5, p. 119-129, 2004.

MARCHIZELI, P. Como atender à crescente demanda por proteínas livres de antibióticos? *Revista aviNews Brasil*, p. 28-32, 2022.

MCBRIDE, W. D, et. Al. Antibióticos subterapêuticos e produtividade em produção de suínos nos Estados Unidos. **Review of Agricultural Economics**, p. 270–288. (2008).

MOWAT, A. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 4, p. 331-341, 2003.

NEUMAN H, et. al. Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. **FEMS Microbiology Reviews**, 39:509–21. 2015.

NOGUEIRA, V. A.; Intoxicação por antibióticos ionóforos em animais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, pag.191-197, 2009.

OLIVEIRA, E. B., et. Al. Impacto da saúde intestinal em aves. **Open Access Journal of Science**, 1(5), 136- 137, 2017

PAVANELI, A. P. P. *et al.* **A eficiência dos produtos naturais em tempos de sustentabilidade**, Nuproxá. Disponível em: <https://avinews.com/pt-br/a-eficiencia-dos-produtos-naturais-em-tempos-de-sustentabilidade/>. Acesso em: 07 jun. 2023.

PENHA, G. de A. et al. Coccidiose aviária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Ano VI**, n. 11, 2008.

PHILLIPS, I.. O uso de antibióticos em animais de produção representa um risco para a saúde humana? Uma revisão crítica dos dados publicados. **Jornal de quimioterapia antimicrobiana** , v. 53, n. 1, pág. 28-52, 2004.

RAMA, J. D.. *Eimeria acervulina* e *Eimeria tenella*: estudo de casos na avicultura de corte industrial. 2016.

REID, W.M. Anticoccidials: Differences in day of peak activity against *Eimeria tenella*. In *Proceedings of the Symposium on Coccidia and Related Organisms* ). **University of Guelph**, p. 119-134, 1973.

REVOLLEDO, L. ; FERREIRA, A. J. P. Anticoccidianos. **PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, HS; GORNIK, SL Farmacologia aplicada à avicultura. São Paulo: ROCA**, p. 189-200, 2005.

ROBERTO L. O. Frangos de corte: cresce a importância da microbiota intestinal na produção. 2018. Disponível em: <http://blog.nutron.com.br/aves/frangos-de-corte-microbiota-intestinal/> Acesso em: 03 jun 2023.

ROCHA, P. T. et al. Coccidiose e seus desafios, o uso do Aviax Plus. **Phibro Master Science**, 2018. Disponível em

<https://phibromasterscience.com/coccidiose-e-seus-desafios-o-uso-do-aviax-plus/>. Acesso em 24 jun 2023.

RYLEY, J.F. and Betts, M.J. Chemotherapy of chicken coccidiosis. **Advances in Pharmacology**, *11*, p. 221-293, 1973.

SALLES, G. O impacto da coccidiose na avicultura industrial. **Zoetis Brasil**, 2020. Disponível em: <  
<https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/21-o-impacto-da-coccidiose-na-avicultura-industrial.aspx>> Acesso em: 22 jun 2023.

SARGEANT MJ, et. Al Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. **PLoS ONE**. 2014.

SCHULZ, L.; RADEMACHER, C.. Food and Drug Administration Guidance 209 and 213 and Veterinary Feed Directive regulations regarding antibiotic use in livestock: A survey of preparation and anticipated impacts in the swine industry. 2017.

SEAL, B. S. et. al.. Alternativas aos antibióticos: um simpósio sobre os desafios e soluções para a produção animal. **Animal Health Research Reviews** , v. 14, n. 1, pág. 78-87, 2013.

SHIVARAMAIAH, C. et al. Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of Eimeria species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, p. 23-34, 2014.

SILVA, J. P. et al. Coccidiose em frangos de corte. **Open Science Research**, 2022.

SILVA, L. F. Uso da monensina em ovinos : revisão de literatura e descrição de um surto de intoxicação no Distrito Federal. 29 nov. 2012.

SMITH, C. K.; GALLOWAY, R. B. Influence of Monensin on Cation Influx and Glycolysis of Eimeria tenella Sporozoites In vitro. **The Journal of Parasitology**, v. 69, n. 4, p. 666–670, 1983.

SOUZA, C. S; et. al., Importância da saúde intestinal em frangos de corte. Investigação, Sociedade e Desenvolvimento , [S. l.] , v. 9, n. 3, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/2475>. Acesso em: 12 jul. 2023.

TARDOCCHI, C. F. T. et al. Saúde intestinal e produtividade de frangos de corte e galinhas poedeiras: .. **Nutri Time**, v. 16, n. 05, p. 8538-8545, 2019. Disponível em: <https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-498.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2023.

TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. **The American Journal of Higiene**. v. 10, n. 2, p. 269-383, 1929.

VERHEYEN, A. et al. In vivo action of the anticoccidial diclazuril (Clinacox®) on the developmental stages of Eimeria tenella: an ultrastructural evaluation. **The Journal of parasitology**, p. 939-949, 1988.

- VERMEULEN, A. N.; SCHAAP, D. C.; SCHETTERS, T. P. Control of coccidiosis in chickens by vaccination. **Veterinary parasitology**, v. 100, n. 1–2, p. 13–20, 2000.
- WANG, C.C. Studies of the mitochondria from *Eimeria tenella* and inhibition of the electron transport by quinolone coccidiostats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, 396(2), p.210-219, 1975
- YANG, W. C. et al. Effect of *Bidens pilosa* on infection and drug resistance of *Eimeria* in chickens. **Research in veterinary science**, v. 98, p. 74-81, 2015.
- YANG, WC et al. Anti-coccidial properties and mechanisms of an edible herb, *Bidens pilosa*, and its active compounds for coccidiosis. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 2896, 2019.
- YEGANI, M.; KORVER, DR Fatores que afetam a saúde intestinal em aves. **Ciência avícola** , v. 87, n. 10, pág. 2052-2063, 2008.
- ZAKERI, A. ; KASHEFI, P. Os efeitos comparativos de cinco promotores de crescimento na imunidade humoral e no desempenho de frangos de corte. **Journal of Animal and Veterinary Advances** , v. 10, n. 9, pág. 1097-1101, 2011.
- ZAVARIZE, K. A importância da saúde intestinal na produção avícola. **Revista aviNews Brasil**, 2022.
- ZULPO, D.L. et al. Pathogenicity and histopathological observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *E. maxima*. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 97-104, 2007