

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

PERFIL DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DESAFIADOS OU NÃO POR COCCIDIOSE

Renan Scarati BÜHRER*¹; Aline de MELO¹, Gabriel Dutra RODRIGUES¹, Flávio CAVENAGHI JUNIOR¹, Amanda Chagas PAPPENBORG¹, Fernanda Lucena GOUVÊA², Andrea Machado Leal RIBEIRO², Priscila de Oliveira MORAES¹

*autor para correspondência: renan-scarati@hotmail.com

¹Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil

Abstract: Coccidiosis is the major parasitic disease that affects chickens, it changes the characteristics of the intestinal lumen may result in a change in the microbiota. The objective of this study was to evaluate the microbiota profile of broilers challenged by *Eimeria* spp.. A total of 288 one-day-old male chicks (Cobb) were randomly assigned to two treatments (eight pens/treatment and 18 birds/pen). At 14 days of age, the birds were challenged with a pool *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* e *Eimeria tenella*. At 28 days of age (seven days post-challenge), samples collected of the intestinal contents for the the analysis of the intestinal microbiota profile was performed. The Firmicutes phylum predominated in both treatments, the phylum Proteobacteria showed only in the challenged birds. In healthy birds, the Bacilli class was predominant (43.5%), the order Lactobacillales (56%) and the family Lactobacillaceae (44.78%). When challenged, the predominant class was clostridia (58%), Clostridiales (55%) and Clostridiaceae (55%), Lactobacillaceae (20%) and Bacteroidaceae (10%). The challenge for *Eimeria* spp. altered the intestinal microbiota, increasing the diversity of bacterial families that are related to lower animal performance indices.

Palavras-chave: avicultura, bactérias, *Eimeria* spp., microbioma, sequenciamento

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

A coccidiose é uma doença causada pela *Eimeria* spp., um parasita responsável por grandes perdas econômicas na indústria avícola, aumentando a mortalidade e reduzindo o desempenho animal. O dano tecidual causado durante o ciclo da *Eimeria* predispõe à enterite necrótica, isto porque os fluidos de tecido que vazam do epitélio danificado fornece ao *Clostridium perfringens* os aminoácidos necessários para o crescimento, além de aumentar a mucogênese tornando o ambiente mais anaeróbio (Shojadoost et al., 2012). Além disso, há uma redução da altura das vilosidades e conseqüentemente uma redução na absorção de nutrientes, deixando disponível mais substrato para o desenvolvimento bacteriano, podendo levar a uma disbiose (Apajalahti e Vienola, 2016).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o perfil da microbiota intestinal de frangos de corte desafiados por coccidiose.

Material e Métodos

Foram alojados 288 pintos de um dia de idade, da linhagem Cobb 500, com uma densidade de 18 aves/m². Não houve diferença na composição nutricional da dieta entre os tratamentos.

O desafio por coccidiose foi feito aos 14 dias de idade com a inoculação, via oral, de 1,0 ml de veículo contendo oocistos esporulados de *E. tenella* (10x10³), *E. acervulina* (200x10³) e *E. máxima* (80x10³), adquiridos no Laboratório de Biologia Molecular de Coccídias (USP). Metade das aves foi desafiada por coccidiose e a outra metade permaneceu sem o desafio, mantidas em salas idênticas porém separadas.

Aos 14 dias após o desafio, ou seja, as 28 dias de idade, três aves por repetição foram eutanasiadas por deslocamento cervical, sem jejum prévio, para a coleta do conteúdo intestinal do duodeno (saída do piloro até o final da alça duodenal descendente) do jejuno (da alça duodenal descendente até o divertículo

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

de Meckel), do íleo (divertículo até a inserção ileocecal). Para a extração do DNA bacteriano foi realizado um pool do conteúdo intestinal dos três segmentos por box. Após a extração, 1ng de DNA foi utilizada para a amplificação com os primers específicos da região V3-V4 do rRNA 16S. O preparo da biblioteca de sequenciamento ocorreu de acordo com tecnologia da empresa Neopropecta Microbiome Technologies na plataforma Illumina MiSeq usando protocolo “Paired-end” (2x300bp). Os grupos bacterianos foram classificados taxonomicamente usando a função *Blast* com o banco de dados SILVA (Richter et al., 2015). Somente sequências com no mínimo 99% de identidade com o banco de dados foram utilizadas para a classificação. Os dados são apresentados com uma análise descritiva.

Resultados e Discussão

Os resultados do sequenciamento das amostras do conteúdo intestinal são apresentados na figura 1. Os dados foram analisados de maneira descritiva de acordo com os resultados obtidos a partir da biblioteca de 16S da Neopropecta (99% de similaridade) com taxonomia completa (filo, classe, ordem, família).

O filo Firmicutes foi predominante independentemente do desafio, porém aves desafiadas apresentaram em sua composição o filo Proteobacterias (2,47%). Este filo inclui uma ampla variedade de bactérias patogênicas como *Escherichia spp.*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*. Em frangos não desafiados a classe predominante foi a Bacilli (43,5%), a ordem Lactobacillales (56%) e a família Lactobacillaceae (44,78%). A predominância da família Lactobacillaceae no intestino delgado de frangos saudáveis tem sido descrita na literatura, por serem bactérias fermentadoras de ácido lático e anaeróbia facultativa (Apajalahti e Vienola, 2016). Em frangos não desafiados, observou-se uma alta incidência da família Clostridiaceae (30,53%), alguns *Clostridium* como o C.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

coccídeos pode ter ação benéfica pela produção de butirato atuando como uma barreira contra a invasão por outros patógenos (Torok et al. 2011).

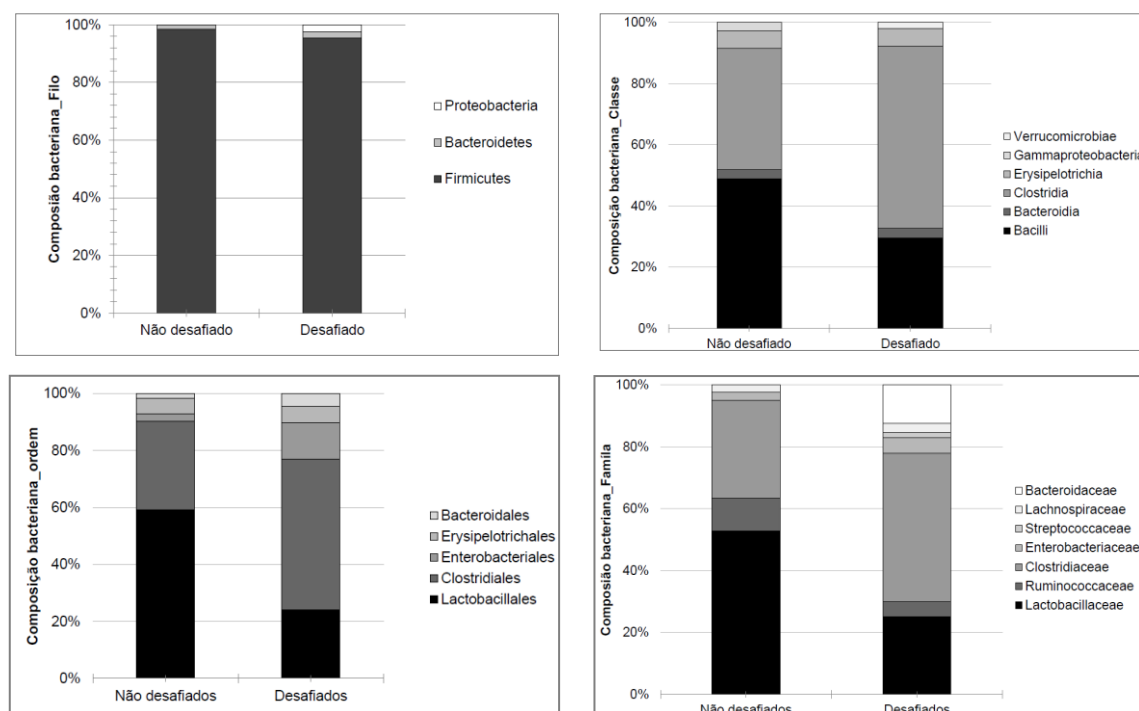


Figura 1- Perfil bacteriano quantitativo (%) de A) Filo, B) Classe, C) Ordem, D) família predominantes de 16S DNAr isolado do conteúdo intestinal de frangos de corte aos 28 dias de idade (14 dias após desafio)

Em frangos desafiados observou-se uma maior diversificação das famílias em relação aos não desafiados, reduzindo Lactobacillaceae (21%) e aumentando Clostridiaceae (55,03%), Bacteroidaceae (13,56%) e Enterobacteriaceae (8%). Uma mudança quantitativa e qualitativa no perfil da microbiota é característica de uma disbiose, que nesse caso é causada pela coccidiose. A disbiose é definida como uma alteração indesejável na microbiota, resultando em um desequilíbrio entre bactérias benéficas e patogênicas, e pode afetar negativamente o desempenho animal (Ducatelle et al., 2014).

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

O aumento do percentual do gênero *Bacteroides*, pertencente a família *Bacteroidaceae*, tem sido relacionado com a baixa eficiência alimentar de frangos (Kley et al., 2012). A família enterobacteria que inclui uma grande variedade de bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Salmonella* (Apajalahti e Vienola, 2016).

Conclusão

O desafio causado por coccidiose alterou a microbiota intestinal de frangos de corte, aumentando o percentual da família *Clostridiaceae*, *Bacteroidaceae* e *Enterobacteriaceae*.

Referências

- Apajalahti, J.; Vienola, K. 2016. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. *Animal feed science and technology* 221:323-330.
- Ducatelle, R.; Eeckhaut, V.; Haesebrouck, F.; Van Immerseel, F. 2015. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. *Animal* 9:43-48.
- Martynova-Van Kley, M.A.; Oviedo-Rondon, E.O.; Dowd, S.E.; Hume, M.; Nalian, A. 2012. Effect of *Eimeria* infection on cecal microbiome of broilers fed essential oils. *International Journal Poultry Science* 11:747-755.
- Richter, M.; Rosselló-Móra, R.; Oliver Glöckner, F.; Peplies, J. 2015. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison. *Bioinformatics* 32:929-931.
- Shojadoost, A.R.; Vince, J.F.; Prescott, T. 2012 The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: a critical review. *Journal of Veterinary Research* 43:74-78.
- Torok, V. A.; Allison, G. E.; Percy, N. J.; Ophel-Keller, K.; Hughes, R. J. 2011. Influence of antimicrobial feed additives on broiler commensal posthatch gut microbiota development and performance. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 3380-3390.