

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

MARIA VITÓRIA MENDES FELIX COSTA

***Lactobacillus acidophilus* INOCULADO EM EMBRIÕES INFECTADOS COM *AVIAN*
PATHOGENIC Escherichia coli DEMONSTRA UM EFEITO PROTETOR SOBRE A
ECLOSÃO**

Uberlândia

2024

MARIA VITÓRIA MENDES FELIX COSTA

***Lactobacillus acidophilus* INOCULADO EM EMBRIÕES INFECTADOS COM *AVIAN*
PATHOGENIC Escherichia coli
DEMONSTRA UM EFEITO PROTETOR SOBRE A ECLOSÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Belchiorina Beatriz Fonseca

Uberlândia

2024

RESUMO

A avicultura desempenha um papel crucial na produção alimentar e na geração de empregos mundialmente. Para enfrentar desafios ambientais e reduzir o uso excessivo de antibióticos na saúde animal, a avicultura sustentável é essencial. A avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) causa graves doenças em aves, resultando em perdas econômicas significativas. Uma das perdas está relacionada com a queda da eclosão e diminuição da qualidade do pintinho. Diante das restrições ao uso de antibióticos, probióticos, como *Lactobacillus acidophilus*, emergem como alternativas promissoras para proteger as aves contra patógenos. O estudo busca avaliar a eficácia desse probiótico nos resultados de eclosão de pintinhos infectados com a APEC durante a vida embrionária. A bactéria patogênica foi inoculada aos 18 dias de incubação, o probiótico aos 19 dias de incubação e os ovos seguiram na incubadora até que a eclosão ocorreu, aos 21 dias. Em seguida, foi realizada a avaliação de mortalidade e nascimento dos pintinhos. A mortalidade foi quatro vezes maior no grupo que não recebeu o tratamento com o probiótico em comparação com o grupo que recebeu a cepa probiótica. Quanto à qualidade dos pintinhos, não houve diferença entre os animais sobreviventes dos três grupos com relação aos parâmetros avaliados, que foram: peso médio, presença do cordão umbilical, qualidade do umbigo (normal ou mal cicatrizado), alterações articulares (leves, moderadas ou severas), empastamento de cloaca e movimento de pedalagem. A partir dos resultados obtidos conclui-se que o *Lactobacillus acidophilus* diminui a mortalidade embrionária causada por APEC e se mostra como uma alternativa promissora para o controle da mesma.

Palavras-chave: avicultura, colibacilose, antibióticos, probióticos, APEC.

ABSTRACT

Poultry farming plays a crucial role in food production and job creation worldwide. To address environmental challenges and reduce the overuse of antibiotics in animal health, sustainable poultry farming is essential. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) causes severe diseases in birds, leading to significant economic losses. One of these losses is related to reduced hatchability and decreased chick quality. Given restrictions on antibiotic use, probiotics, such as *Lactobacillus acidophilus*, have emerged as promising alternatives to protect birds against pathogens. This study aims to assess the effectiveness of this probiotic on the hatching outcomes of chicks infected with APEC during embryonic development. The pathogenic bacteria was inoculated at 18 days of incubation, the probiotic at 19 days, and the eggs remained in the incubator until hatching at 21 days. Subsequently, mortality and chick hatching rates were evaluated. Mortality was four times higher in the group that did not receive the probiotic treatment compared to the group that received the probiotic strain. Regarding chick quality, there was no difference among the surviving animals in the three groups regarding the evaluated parameters, which were: average weight, presence of the umbilical cord, umbilical quality (normal or poorly healed), joint abnormalities (mild, moderate, or severe), vent pasting, and paddling movement. Based on the results obtained, it is concluded that *Lactobacillus acidophilus* reduces embryo mortality caused by APEC and appears to be a promising alternative for its control.

Keywords: Poultry farming, colibacillosis, antibiotics, probiotics, APEC.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	5
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1	Importância da Avicultura	6
2.2	Escherichia coli	6
2.3	Uso de antibióticos como melhoradores de desempenho e consequências	7
2.4	Probióticos: o que são e para que servem – (<i>L. acidophilus</i>)	8
3	MATERIAL E MÉTODOS	10
4.	RESULTADOS	111
5.	DISCUSSÃO.....	13
6.	CONCLUSÃO.....	15
	REFERÊNCIAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

A avicultura desempenha um papel fundamental na produção de alimentos e empregos em escala global, representando aproximadamente 39% da proteína animal consumida mundialmente (FAO, 2023). No entanto, a produção intensiva de aves enfrenta diversos desafios, como a infecção por Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC), que acarreta perdas econômicas significativas na indústria avícola (Dziva; Stevens, 2008). O uso indiscriminado de antibióticos como melhoradores de desempenho (AMD) desde a década de 40 agravou essa situação, contribuindo para o surgimento de cepas bacterianas resistentes e impactando negativamente o meio ambiente. Apesar do uso ser proibido em vários países hoje em dia, os impactos negativos dessa prática seguem presentes na avicultura (Fernandez-Miyakawa; Casanova; Kogut, 2024).

Diante desse panorama, os probióticos emergem como uma alternativa promissora para mitigar os problemas associados ao uso de antibióticos (Kabir, 2009). Microrganismos como *Lactobacillus acidophilus* tem sido objeto de estudo devido à sua capacidade de promover a saúde intestinal das aves e inibir o crescimento de patógenos, incluindo a *E. coli* (Anjum *et al.* 2014; Seddik, *et al.* 2017).

Sendo assim, os probióticos oferecem uma abordagem mais sustentável e segura para aprimorar o desempenho das aves, reduzindo a dependência de antibióticos e os impactos ambientais relacionados com essa prática. Dessa forma, é crucial investir em pesquisas e adotar estratégias que fomentem o uso responsável de antibióticos e o desenvolvimento de probióticos eficazes para assegurar a sustentabilidade e a saúde contínua da indústria avícola

Considerando os desafios impostos pela presença da APEC na produção avícola incluindo a diminuição da taxa de eclosão, aumento da mortalidade embrionária, redução da qualidade do ovo e do pintinho por causar onfalite, aumento da mortalidade na primeira semana e infecção do saco vitelino (Joseph *et al.*, 2023) o objetivo do trabalho foi investigar o potencial do *L. acidophilus* UNICLON01 em alterar a mortalidade e melhorar a qualidade de pintinhos oriundos de embriões inoculados com APEC.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância da Avicultura

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), em seus relatórios anuais, destaca a importância da avicultura mundial em termos de produção de alimento e emprego. Em 2021, a produção mundial de carne de aves foi estimada em cerca de 138.3 milhões de toneladas, sendo responsável por quase 39% da proteína animal consumida pelo mundo (FAO, 2023). Além disso, a FAO afirma que a avicultura pode ser conduzida de maneira mais sustentável, visando a diminuição dos impactos negativos ambientais associados à produção de animais. Isso ressalta a importância do estudo realizado, visto que existe uma urgência para controlar os efeitos negativos da produção de animais sobre a biodiversidade e o ambiente, assim como para interromper o uso indevido de antibióticos em saúde animal (FAO, 2018).

2.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, muito difundida na natureza e cujo principal habitat é o intestino de humanos e animais. A *E. coli* comensal pertencente à microbiota intestinal não é patogênica e desempenha um importante papel fisiológico no funcionamento do organismo (Dziva; Stevens, 2008).

A APEC é uma *E. coli* Patogênica Extraintestinal (ExPEC), que causa infecções locais e sistêmicas em aves, como: frangos, perus, patos, etc (Dho-Moulin; Fairbrother, 1999). As alterações mais comuns causadas pela APEC em frangos são perihepatite, aerossaculite, pericardite, peritonite ovular, salpingite, coligranuloma, onfalite, celulite e osteomielite/artrite. Essas manifestações são comumente referidas como colibacilose aviária. A APEC também causa a síndrome da cabeça inchada em frangos e o complexo de osteomielite em perus (Dziva; Stevens, 2008).

A colibacilose é uma das principais causas de mortalidade (até 20%) e morbidade em aves e também resulta na diminuição da produção de carne (2% de queda no peso vivo, 2,7% de deterioração na taxa de conversão alimentar) e de ovos (até 20%), diminuição das taxas de eclosão e aumento da condenação de carcaças (até 43%) no abate (Dho-Moulin; Fairbrother, 1999; Guabiraba; Schouler, 2015; Mellata, 2013). Além disso, a APEC é responsável por alta mortalidade (até 53,5%) em frangos jovens. Sendo assim, em conjunto com as despesas de

tratamento, a APEC custa à indústria avícola centenas de milhões de dólares em perdas econômicas em todo o mundo (Ghunaim; Abu-Madi; Kariyawasam, 2014).

Adicionalmente, a via de transmissão é de suma importância para a fisiopatologia da doença visto que matrizes de frangos de corte podem transmitir *E. coli* entre si e verticalmente para suas progênes. A APEC transmitida verticalmente pode aumentar a mortalidade nas primeiras semanas dos pintinhos devido à transmissão horizontal que ocorre no incubatório e na granja. Na incubadora, os ovos infectados pelo oviduto das galinhas podem potencialmente transmitir APEC para outros embriões durante a incubação. Sendo assim, na bandeja de eclosão, pintinhos não infectados podem entrar em contato com pintinhos infectados através de penas e fezes. A mortalidade de primeira semana também é um marcador importante da qualidade do lote e um estudo analisou o papel de *E. coli* na mortalidade de pintinhos entre 48–72 horas após a eclosão e encontrou sintomas de colibacilose em cerca de 70% dos pintinhos mortos. Interessantemente, aproximadamente 17% dessa mortalidade, em média, teve como principal causa de morte a *E. coli* como o patógeno primário (Joseph et al., 2023).

2.3 *Uso de antibióticos como melhoradores de desempenho e consequências*

Em 1940, foi descoberto o efeito promotor de crescimento dos antibióticos após resultados positivos serem observados na produção de aves e suínos. O uso desses fármacos como aditivos alimentares, sem prescrição, foi aprovado para animais nos Estados Unidos e em outros países. Sendo assim, a partir dessa época os antibióticos foram suplementados na ração do animais em doses subterapêuticas para prevenir infecções, melhorar o crescimento e a conversão alimentar (Fernandez-Miyakawa; Casanova; Kogut, 2024).

No entanto, é de suma importância ressaltar que apesar da prática ter iniciado na década de 40 (Fernandez-Miyakawa; Casanova; Kogut, 2024), nos últimos anos, grandes mercados consumidores passaram a limitar o uso de AMDs. A União Europeia foi um dos primeiros blocos econômicos a proibir completamente qualquer tipo de antibiótico no alimento animal com essa finalidade. Uma abordagem semelhante está sendo tomada nos Estados Unidos, onde foi instaurada uma restrição parcial que se aplica apenas aos antibióticos considerados importantes para uso humano (Strappazzon; Boiago, 2022). Já no Brasil, o uso desses produtos foi sendo proibido pelo MAPA ao longo dos anos através de medidas como a Portaria SARC/MAPA nº 31 (BRASIL, 2002), Instrução Normativa MAPA nº 09 (BRASIL, 2003), Instrução Normativa SARC/MAPA nº 11 (BRASIL, 2004), Instrução Normativa MAPA nº 26

(BRASIL, 2009), Instrução Normativa MAPA nº 14 (BRASIL, 2012), Instrução Normativa MAPA nº 45 (BRASIL, 2016 e da Instrução Normativa SDA/MAPA nº 1 (BRASIL, 2020).

Adicionalmente, é relevante salientar que os antibióticos melhoradores de desempenho (AMDs) são administrados em doses subterapêuticas, muito inferiores às concentrações inibitórias mínimas (CIM) relatadas para diversas espécies bacterianas. A CIM é a menor concentração de um antimicrobiano que tem um efeito visível sobre as bactérias-alvo. Contudo, a atividade bacteriana, a capacidade funcional ou o metabolismo podem ser afetados por essas concentrações subinibitórias de antibióticos, o que pode resultar em vantagens competitivas para algumas espécies de bactérias, como as bactérias patogênicas altamente adaptadas. Muitos medicamentos podem induzir mudanças no metabolismo bacteriano por diferentes mecanismos de ação, dependendo não somente das espécies bacterianas envolvidas, mas também das características de outros microrganismos presentes no ambiente em que elas se encontram (Fernandez-Miyakawa; Casanova; Kogut, 2024).

2.4 Probióticos: o que são e para que servem – (*L. acidophilus*)

Alguns pesquisadores acreditam que há um equilíbrio oscilante de bactérias benéficas e maléficas no trato digestório de aves saudáveis e sem estresse. Quando esse equilíbrio está presente, a ave pode atingir a máxima eficiência, mas, se o estresse é imposto, a microbiota benéfica, especialmente os *Lactobacillus*, tende a diminuir em número e ocorre um crescimento excessivo das bactérias maléficas (Kabir, 2009).

Como dito anteriormente, nas últimas décadas houve um aumento substancial no uso de antibióticos visando prevenir e controlar doenças, além de que, por muito tempo, foram utilizados como AMDs. Porém, a utilização desses agentes foi proibida em alguns países devido as evidências da evolução da resistência antimicrobiana entre bactérias patogênicas. Sendo assim, existe a necessidade de uma opção aos antimicrobianos no combate a agentes bacterianos e melhora no desempenho dos animais e, tanto consumidores, quanto produtores estão buscando alternativas. Dessa forma, probióticos estão passando a ser considerados potenciais substitutos para preencher essa lacuna e alguns produtores já optam pelo uso deles (Kabir, 2009).

Considerando a definição atualmente adotada pela FAO/OMS, probióticos são: "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro". Mais precisamente, probióticos são microrganismos vivos

não patogênicos e não tóxicos, que quando administrados pelo sistema digestório, acarretam benefícios a saúde do hospedeiro (Kabir, 2009) .

Estudos indicaram que as bactérias ácido lácticas (BAL) podem ser empregadas como probióticos para animais. É importante ressaltar que se espera que uma linhagem probiótica potencialmente benéfica possua diversas qualidades desejadas para exercer seus efeitos benéficos. Os requisitos básicos que foram relatados para a utilização de um microrganismo como probiótico incluem: (1) serem reconhecidas como seguros, (2) serem tolerantes a ácido e bile, (3) serem capazes de aderir ao epitélio intestinal dos hospedeiros, (4) serem capazes de demonstrar atividade antagonista contra bactérias patogênicas e (5) manter sua viabilidade durante o processamento e armazenamento (LIN *et al.*, 2007).

O *Lactobacillus acidophilus* é uma BAL, microaerofila, em forma bastonete e gram-positiva, que produz bacteriocinas da classe II a. Diversas bacteriocinas desse microrganismo foram identificadas e estudadas. Apesar de serem estruturalmente semelhantes, elas variam em peso molecular e em seu espectro de ação antimicrobiana. Possuem características técnicas importantes como resistência ao calor e capacidade de manter sua atividade em diferentes faixas de pH. Além disso, essas bacteriocinas apresentam propriedades inibitórias contra bactérias patogênicas e bactérias que deterioram alimentos. A capacidade do *L. acidophilus* ou de seus metabólitos de diminuir o crescimento de patógenos humanos como *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e alguns outros foi bem documentada (Anjum *et al.*, 2014) .

Além disso o *Lactobacillus acidophilus* é uma bactéria probiótica bem estudada, conhecida por seus inúmeros benefícios à saúde e seu papel na fermentação de alimentos. Como membro do grupo das bactérias ácido-láticas, ela fermenta principalmente carboidratos em ácido láctico, o que contribui para sua eficácia como probiótico. Esse processo de fermentação não só reduz o pH do ambiente, criando um meio ácido que inibe o crescimento de bactérias patogênicas, mas também aumenta a biodisponibilidade de nutrientes em produtos fermentados (Wang *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2021).

As propriedades probióticas da bacteria vão além da simples fermentação. Foi demonstrado que ela modula a microbiota intestinal, promovendo um equilíbrio saudável entre microrganismos benéficos e patogênicos. Ao aderir às superfícies epiteliais intestinais, *L. acidophilus* pode impedir a colonização de bactérias patogênicas, melhorando assim a saúde intestinal e a função imunológica (Çelebi *et al.*, 2020; Bedani *et al.*, 2013). A produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) durante a fermentação é outro mecanismo pelo qual *L. acidophilus* exerce seus efeitos benéficos, pois os AGCCs desempenham um papel essencial na manutenção da saúde intestinal e na modulação da resposta imunológica (Gong *et al.*, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC), no Laboratório de Incubação de Aves (LIAVE) e no Laboratório de análise de alternativos aos antimicrobianos (LAPAT), todos da Universidade Federal de Uberlândia. Foram utilizados embriões de galinha (EG) da linhagem Ross. Os ovos foram incubados e aos 16 dias de desenvolvimento embrionário (DDE), foram divididos em 3 grupos de 25 ovos cada, pesados e marcados. Dois grupos foram inoculados com APEC via membrana da casca (MC) a 10^3 log UFC/mL (10^2 log UFC/EG) no 18º DDE e o terceiro grupo foi inoculado com salina sendo ele o controle negativo (CN). Os embriões foram então acondicionados em incubadora automática (Premium Ecológica®) a uma temperatura de 37,5°C e umidade de 55%. Foi feita ovoscopia para avaliação de mortalidade aos 19 DDE. Em seguida, um dos grupos que recebeu a APEC foi inoculado com *Lactobacillus acidophilus* (LA) a 10^6 log UFC (10^5 log UFC/EG) via âmnio. O CN foi inoculado com salina 0,85% por via âmnio. O outro grupo inoculado com APEC anteriormente foi considerado controle positivo (CP) e inoculado com salina via âmnio. Foi feito acompanhamento dos embriões diariamente por ovoscopia até a eclosão aos 21 DDE.

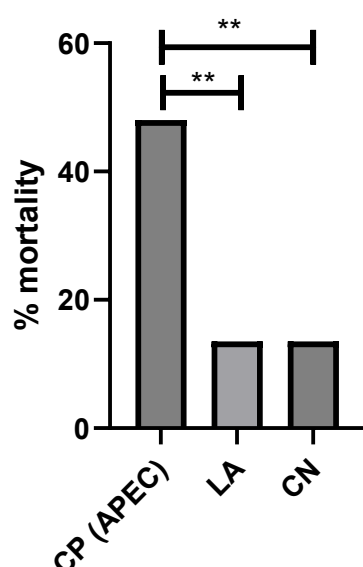
Após o nascimento, os pintinhos permaneceram na incubadora até a completa secagem das penas. Em seguida foi realizada avaliação da mortalidade embrionária e qualidade do pintinho. Em pintinhos nascidos as seguintes características foram observadas: comportamento sonolento, penugem encrostada, lesão em articulação, penugem muito branca, abdome e/ou cloaca emplastada, presença de cordão umbilical, olho melado, pernas desidratadas, penugem falha e penugem esverdeada. Pintinhos que apresentassem nenhuma ou leve alteração de olho, penugem, bico, pescoço, sistema locomotor, que tivessem umbigo normal ou apenas com presença de resíduo de até 2mm, pernas hidratadas ou levemente desidratadas, abdome firme e não emplastado, eram considerados como de boa qualidade. Os pintinhos foram pesados, anestesiados com xilazina (0,4mg/kg) e quetamina (100mg/kg) e eutanasiados por deslocamento cervical.

Para análise estatística, foi realizada o teste do qui-quadrado seguido pelo binomial entre duas proporções considerando um $p < 0,05$. Foi utilizado o GraphPad Prism 8 software (GraphPad Software, Inc., USA).

4. RESULTADOS

A mortalidade foi de 13,6% (3/25) para o CN, 48% (12/25) para o CP e 13,6% (3/25) para o LA. Não houve diferença estatística entre a mortalidade do CN e do grupo tratado com LA mas houve diferença estatística entre o grupo CN e CP e também entre o CN e o grupo inoculado com APEC e tratado com LA (Figura 1). A mortalidade foi 4 vezes maior no grupo que não recebeu o tratamento com o probiótico quando comparada com o grupo em que a cepa probiótica foi administrada (Figura 1)

Figura 1. Índice de mortalidade (%) de embriões inoculados com Avian Pathogenic *Escherichia coli* aos 18 dias de desenvolvimento embrionário e tratados com *Lactobacillus acidophilus* aos 19 dias de desenvolvimento embrionário (todos os ovos que não eclodiram foram considerados como mortalidade).



CN – controle negativo: inoculado apenas com Salina aos 18 e 19 dias de desenvolvimento embrionário (DDE); CP – controle positivo: inoculado com Avian Pathogeni *E. coli* (APEC) aos 18 DDE e inoculado com salina aos 19 DDE; LA – inoculado com APEC aos 18 DDE e tratados com *Lactobacillus acidophillus* aos 19 DDE.

No que diz respeito a qualidade dos pintinhos não houve diferença entre os animais sobreviventes dos grupos CN, CP e LA com relação aos parâmetros: peso médio, presença do

cordão umbilical, qualidade de umbigo (normal ou mal cicatrizado), alterações articulares (leves, moderadas ou severas), empastamento de cloaca e movimento de pedalagem. Os dados obtidos estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1 – Avaliação da qualidade dos pintinhos oriundos de embriões infectados com Avian Pathogenic *Escherichia coli* aos 18 dias e tratados com *Lactobacillus acidophilus* aos 19 dias de desenvolvimento embrionário

Parametro	CN	CP	LA
Peso médio	44,00g	46,10g	45,75g
Presença do cordão umbilical	2 pintinhos	3 pintinhos	0 pintinhos
Umbigo mal cicatrizado	5 pintinhos	8 pintinhos	14 pintinhos
Alteração articular leve	8 pintinhos	1 pintinho	0 pintinhos
Alteração articular moderada	0 pintinhos	1 pintinho	0 pintinhos
Alteração articular grave	0 pintinhos	1 pintinho	0 pintinhos
Empastamento de cloaca	1 pintinho	0 pintinhos	2 pintinhos
Movimento de pedalagem	0 pintinhos	1 pintinho	1 pintinho

CN – controle negativo: inoculado apenas com Salina aos 18 e 19 dias de desenvolvimento embrionário (DDE); CP – controle positivo: inoculado com Avian Pathogeni *E. coli* (APEC) aos 18 DDE e inoculado com salina aos 19 DDE; LA – inoculado APEC aos 18 DDE e tratados com *Lactobacillus acidophilus* aos 19 DDE.

5. DISCUSSÃO

A APEC é um patógeno conhecido por causar complicações que podem levar à mortalidade embrionária. Isso pode ocorrer principalmente por meio de mecanismos que envolvem a contaminação da membrana vitelínica e processos subsequentes de infecção. Estudos demonstraram que cepas virulentas de APEC podem causar mortalidade significativa em embriões de galinha, com algumas cepas alcançando taxas de mortalidade superiores a 80% em ambientes experimentais (Nicolas et al., 2023; Ozaki et al., 2018).

Os métodos atuais de prevenção de infecções por APEC em aves concentram-se principalmente em medidas de biossegurança, estratégias de vacinação e o uso de probióticos vem sendo explorado.

As práticas de biossegurança visam minimizar a introdução e disseminação de APEC nas populações de aves, incluindo protocolos rigorosos de higiene e monitoramento da saúde do lote (Joseph, 2023). A vacinação contra APEC tem sido explorada, embora a eficácia possa variar dependendo das cepas específicas envolvidas (Joseph, 2024). Os probióticos também têm sido investigados por seu potencial de competir com bactérias patogênicas e melhorar a saúde intestinal, reduzindo assim a incidência de infecções por APEC (Li et al., 2021).

As intervenções *in ovo* representam uma abordagem inovadora para prevenir a mortalidade associada à APEC e demonstram ser promissoras na redução da colonização pela bactéria, diminuir a incidência de infecções pela bactéria, melhoria da viabilidade geral do embrião e aumento das taxas de sobrevivência. Esse método envolve a administração de probióticos ou outros agentes protetores diretamente no ovo antes da incubação (Li et al., 2021). No entanto, em outros trabalhos encontrados, nenhum monitorou a mortalidade a partir do momento da infecção pela bactéria e o controle com a administração do probiótico durante o desenvolvimento embrionário. Sendo esse um dos primeiros a observar todo o percurso, desde a contaminação até o nascimento e avaliação da qualidade dos pintinhos no momento da eclosão.

O presente trabalho corrobora com essas descobertas visto que a partir dos parâmetros analisados e dos dados coletados no experimento foi possível observar que o tratamento com LA levou a uma menor mortalidade e maior taxa de eclosão. Nota-se que o número de óbitos no grupo que recebeu o LA é o mesmo número do grupo que não foi desafiado com a APEC (Figura 1), o que é um ótimo indicador da capacidade probiótica do mesmo. Estratégias como essa, não apenas visam o combater o patógeno diretamente, mas também têm como

consequência o fortalecimento da resposta imunológica, oferecendo uma abordagem multifacetada para a redução da mortalidade visto que os mecanismos de ação dos probióticos podem acarretar em outros benefícios para o hospedeiro (Gong et al., 2020).

Mesmo diante de um resultado positivo, é importante salientar que apesar de reduzir a mortalidade, o LA não foi capaz de melhorar a qualidade do pintinho (Tabela 1). Também, não é possível afirmar que as alterações observadas ocorreram pela ação do probiótico.

Bactéria patogênica podem causar problemas no umbigo de pintinhos que é a região pela qual a bactéria entra e pode culminar no aparecimento de umbigos inchados, vermelhos e até com pequenos abscessos (Shaikh S. R. et al., 2024). No entanto, em nosso trabalho o CP apresentou resultado similar ao CN. É possível hipotetizar que o número de amostras para análise da qualidade dos pintinho possa ter interferido no resultado. Isso porque houve alta mortalidade no controle positivo o que pode ter comprometido a análise da qualidade. Assim outros trabalhos devem ser realizados com uma quantidade maior de animais por grupo.

6. CONCLUSÃO

O *Lactobacillus acidophilus* diminui a mortalidade embrionária causada por APEC sendo uma promissora ferramenta para ser usado em embriões como método de controle para inibir os efeitos da APEC na vida embrionária.

REFERÊNCIAS

- ANJUM, N. et al. *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the Species and Application in Food Production. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 9, p. 1241–1251, 2014.
- ARREGUIN-NAVA, M. A., et al. Evaluation of in ovo *Bacillus* spp. based probiotic administration on horizontal transmission of virulent *Escherichia coli* in neonatal broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 12, p. 6483–6491, 2019.
- BEDANI, R., et al. Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* la-5 and *Bifidobacterium animalis* bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology**, v. 34, n. 2, 2013, p. 382-389.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 09, de 27 de junho de 2003. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 30 de junho de 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 11, de 24 de novembro de 2004. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 25 de novembro de 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 26, de 09 de julho de 2009. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 10 de julho de 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 14, de 17 de maio de 2012. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 18 de maio de 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 45, de 22 de novembro de 2016. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 30 de novembro de 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Instrução Normativa Nº 01, de 13 de janeiro de 2020. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 23 de janeiro de 2020.
- ÇELEBI, B., et al. Effects of Loganic Acid Isolated from *Vinca soneri* on the Surface Hydrophobicity and Auto-Aggregation of Probiotic Bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. **Journal of the Institute of Science and Technology of Erzincan University**, v. 13, n. 1, 2020, p. 115-122.
- DHO-MOULIN, M.; FAIRBROTHER, J. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). **Veterinary research**, v. 30, n. 2, p. 299–316, 1999.
- DZIVA, F.; STEVENS, M. P. Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* in their natural hosts. **Avian pathology: journal of the W.V.P.A.**, v. 37, n. 4, p. 355–366, 2008.

FAO. **Food Outlook – Biannual report on global food markets**. 2023. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4060/cc8589en>>. Acesso em: 10 mar. 2024.

FAO. **Transforming the livestock sector through the Sustainable Development Goals In brief**. 2018. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/ca1177en/CA1177EN.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2024.

FERNÁNDEZ MIYAKAWA, M. E.; CASANOVA, N. A.; KOGUT, M. H. How did antibiotic growth promoters increase growth and feed efficiency in poultry? **Poultry science**, v. 103, n. 2, p. 103278, 2024.

GHUNAIM, H.; ABU-MADI, M. A.; KARIYAWASAM, S. Advances in vaccination against avian pathogenic *Escherichia coli* respiratory disease: Potentials and limitations. **Veterinary microbiology**, v. 172, n. 1–2, p. 13–22, 2014.

GONG, X., et al. Polyphenols in the fermentation liquid of *dendrobium candidum* relieve intestinal inflammation in zebrafish through the intestinal microbiome-mediated immune response. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020.

GUABIRABA, R.; SCHOUER, C. Avian colibacillosis: still many black holes. **FEMS microbiology letters**, v. 362, n. 15, p. fnv118, 2015.

JOSEPH, J. et al. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) in broiler breeders: An overview. **Pathogens**, v. 12, n. 11, p. 1280, 2023. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA]. Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo. Portaria SARC/MAPA Nº 31, de 29 de janeiro de 2002. **Diário Oficial da União**, Seção I. Brasília: 05 de fevereiro de 2002.

JOSEPH, J., et al. Phenotypic virulence characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* (apec) isolates from broiler breeders with colibacillosis in mississippi. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 135, no. 5, 2024.

KABIR, S. M. L. The role of probiotics in the poultry industry. **International journal of molecular sciences**, v. 10, n. 8, p. 3531–3546, 2009.

LI, M., et al. The nutrient requirements of *Lactobacillus acidophilus* la-5 and their application to fermented milk. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, 2021, p. 138-150.

LI, T., et al. Effects of in ovo probiotic administration on the incidence of avian pathogenic *Escherichia coli* in broilers and an evaluation on its virulence and antimicrobial resistance properties. **Poultry Science**, vol. 100, no. 3, 2021, p. 100903.

LIN, W.-H. et al. Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. **Anaerobe**, v. 13, n. 3–4, p. 107–113, 2007. WANG, J., et al. "Aroma profiles of sweet cherry juice fermented by different lactic acid bacteria determined through integrated analysis of electronic nose and gas chromatography–ion mobility spectrometry". **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023.

MELLATA, M. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: Infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. **Foodborne pathogens and disease**, v. 10, n. 11, p. 916–932, 2013.

NICOLAS, M., et al. Isolation and characterization of a novel phage collection against avian-pathogenic escherichia coli. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 3, 2023.

OZAKI, H., et al. Virulence of escherichia coli isolates obtained from layer chickens with colibacillosis associated with pericarditis, perihepatitis, and salpingitis in experimentally infected chicks and embryonated eggs. **Avian Diseases**, v. 62, n. 2, 2018, p. 233-236.

SHAIKH S. R.; SIDDIQUI M. F. M. F.; SAKHARE M. P. Importance of Colibacillosis in Poultry. **Research Perspectives of Microbiology and Biotechnology**, v. 1, 14 March 2024 , Page 54-72.

STRAPAZZON, J. V.; BOIAGO, M. Promotores de crescimento na avicultura: existem alternativas para os antibióticos? **Revista SB Rural**, Ed 268, 2022.