

PAULO CESAR RIQUELME SALAZAR

**Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o
desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal em
frangos de corte**

Pirassununga
2006

PAULO CESAR RIQUELME SALAZAR

Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, resposta imunológica e morfometria intestinal em frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada e

8030
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
7/6/06

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1708
FMVZ

Riquelme Salazar, Paulo Cesar

Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, resposta imunológica e morfometria intestinal em frangos de corte / Paulo Cesar Riquelme Salazar. – Pirassununga : P. C. Riquelme Salazar, 2006.
72 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2006.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Ácidos orgânicos. 2. Desempenho. 3. Modulação da imunidade. 4. Morfologia intestinal. 5. Promotor de crescimento.
I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão de Bioética

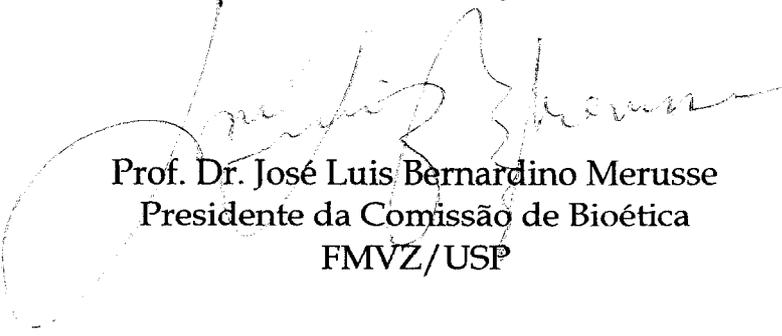
PARECER

Interessado: Paulo Riquelme Salazar

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 848/2006, intitulado: "Efeitos do butirato de sódio associado ao ácido láctico sobre a resposta imunológica, morfologia intestinal e desempenho em frangos de corte", no qual foram utilizadas 1.400 (um mil e quatrocentos) aves, sob responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 24 de março de 2006



Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: RIQUELME SALAZAR, Paulo César

Título: Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal em frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição.: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

A mis queridos padres Miguel y Flor, por todo su apoyo incondicional durante este y todos los desafíos que he emprendido durante mi vida y a mis hermanos Carola y Julio entregandome a distancia cariño y comprensión en esta árdua tarea.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, da FMVZ/USP, por todo seu apoio e confiança desde o início deste desafio. Permitindo em harmonia o desenvolvimento deste trabalho.

A FAPESP pelo apoio financeiro prestado à realização da pesquisa em questão.

As empresas Inve e Tortuga, pelo apoio e colaboração ao desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Laboratório de Patologia Avícola - APTA – Descalvado, em especial a Ana Lúcia e Eliane por todo seu entusiasmo e apoio no andamento do presente estudo.

A Ester e Paulo César do laboratório Ceptox da USP, *Campus* Pirassununga, pelo auxílio e apoio prestado de forma oportuna no desenvolvimento do experimento.

Ao Professor Flavio Meireles por toda a assistência prestada no Laboratório de Morfologia da FZEA, facilitando a realização do estudo em questão.

A assistente social Sra.Tânia, por toda sua colaboração e apoio durante minha estadia no *Campus* Pirassununga, permitindo-me desenvolver-me com tranquilidade e bem estar.

As famílias Mazzi Teixeira e Venegas Kaune por toda sua gentileza, carinho, apoio e boa convivência durante todo momento de refúgio em São Paulo, fazendo-me sentir em casa.

Aos meus amigos Bruno e Francine por toda sua amizade, compreensão e carinho entregue durante o mestrado, auxiliando-me nos momentos mais críticos desta tarefa.

À Paulinha Takeara por toda ajuda prestada no desenvolvimento final deste trabalho, conseguindo finalizar com sucesso esta dissertação de mestrado.

Aos amigos Aline, Waleska, Lílian, Letícia, Adriana, Patrícia, Carol, Estelinha, Ana Loise, Ana Paula, Estela, Raquel, Marina, Milena, Rondon, Yatsen, Rafael, Willian, Daniel e Gilson por toda a convivência durante este ano e meio, passando por diferentes situações, permitindo-me crescer como pessoa através dos meus erros e acertos.

Aos Professores Marcos Veiga e João Demarchi por todo seu incentivo ao desenvolvimento do espírito crítico durante as diferentes atividades do mestrado.

Aos Professores Messias, Paulinho, Aníbal, Felix, Luis Felipe, Celso Carrer e Augusto Gamero, por todo conhecimento transmitido durante o mestrado.

RESUMO

RIQUELME SALAZAR, P. C. **Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal em frangos de corte.** [Effect of lactic and butyric acids, isolated and associated, on performance, humoral immunity and intestinal morphometric in broilers]. 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

Durante os últimos anos a avicultura nacional tem sofrido constantes desafios, tendo como objetivo ampliar o mercado consumidor do frango de corte ao redor do mundo. Entretanto, cada mercado apresenta exigências diferentes, como no caso do mercado europeu que estabelece a exclusão dos antibióticos como promotores de crescimento na alimentação dos frangos de corte. Visando esta problemática, realizou-se este estudo, com o objetivo de analisar os resultados da utilização dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, como aditivos em dietas de frangos de corte, em relação ao promotor de crescimento usualmente utilizado nas dietas dos mesmos. Foram avaliados: o desempenho, a imunidade humoral e a morfometria intestinal das aves. Utilizaram-se 1400 pintainhos machos da linhagem comercial Ross, divididos em cinco tratamentos (controle - sem aditivo -; ácido butírico; ácido láctico; ácido butírico + ácido láctico e avilamicina - antibiótico, promotor de crescimento tradicionalmente utilizado na produção de frangos de corte). Os resultados de desempenho indicaram que a interação dos ácidos foi significativa na fase inicial, entretanto não ocorreu um efeito aditivo dos ácidos, sendo o uso do ácido butírico isoladamente mais recomendável durante essa fase. Já na fase de crescimento, a interação foi significativa com um efeito aditivo, recomendando seu uso nas rações de crescimento. De acordo com os títulos médios de anticorpos obtidos no estudo, a interação foi significativa aos 35 dias de idade e mostrou um efeito sinérgico, sendo a combinação dos ácidos em questão um potente modulador da imunidade humoral. Os resultados obtidos nas análises de morfometria intestinal não foram

conclusivos. Em termos gerais, requerem-se mais estudos quanto ao uso dos ácidos orgânicos como promotores de crescimento.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos. Desempenho. Modulação da imunidade. Morfologia intestinal. Promotor de crescimento.

ABSTRACT

RIQUELME SALAZAR, P.C. **Effect of latic and butiric acids, isolated and associated, on performance, humoral immunity and intestinal morfometric in broilers** [Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal em frangos de corte]. 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

During the last years, the national poultry keeping has suffered constant challenges, having as objective to diversify the consuming market of the broiler to around of the world. However, each market presents different requirements, as in the case of the European market that establishes the exclusion of antibiotics as promotional of growth in the feeding of the broilers. Aiming at this problematic one, this study was become fulfilled, with the objective to analyze the results of the association of the butyric and lactic acids as additives in the ration of broilers, in comparison to the results gotten for the usually used promoters of growth in the diets of broilers. They had been evaluated: the animal performance, humoral immunology and intestinal morfometric of the birds. 1400 male chickens of the commercial ancestry Ross had been used, dividing them in five groups with different treatments to that if it relates to the additive use. Being a group it has controlled absent of additive, a group with butyric acid, a group with lactic acid, the fourth group with the association of butyric and lactic acids, and the fifth group with avilamicina (antibiotic) as promotional of traditionally used growth in the production of broilers. The performance results had indicated that the interaction of acid ones was significant in the initial phase, mean while did not occur an additive effect of acid ones, being the use of the butyric acid separately more recommendable during this phase. Already in the growth phase, the interaction was significant with an additive effect, recommending its use in the rations of growth. In accordance with the average headings of antibodies gotten in the study, the interaction was significant in the third sampling and showed a synergic effect of

acid ones, being the combination of acids in question a powerful modulator of the humoral immunity. Meanwhile, the results gotten in the analyses of intestinal morfometric had not been conclusive. In general terms, one requires more organic acid studies that confirm the use of as the promotional ones of growth.

Key Words: Immunity modulation. Intestinal Morfology. Organic acid. Performance. Promoters of growth.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Potencial de dissociação de acidulantes empregados em ração....	33
Tabela 2 -	Composição percentual e valor nutricional estimado das rações experimentais nas diferentes fases de criação.....	40
Tabela 3 -	Suplementação vitamínico-mineral (Vit.- Min.) por kg de alimento utilizado	41
Tabela 4 -	Esquema de contrastes para estudo de diferentes respostas e de interação.....	45
Tabela 5 -	Esquema de análise de variância para os parâmetros imunológicos com três medidas repetidas no tempo, em um delineamento inteiramente casualizado.	46
Tabela 6 -	Desempenho médio de frangos de corte na fase inicial, crescimento, final e total, em função dos diferentes tratamentos.	48
Tabela 7 -	Médias dos títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (Teste de Elisa) em frangos de corte em três idades ..	60
Tabela 8 -	Médias da morfometria intestinal de frangos de corte dos diferentes tratamentos.	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Comportamento dos Títulos de Anticorpos dos grupos tratados nos diferentes dias de amostragem.....	57
------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Vit- Min	- vitamínico mineral
GP	- ganho de peso
CR	- consumo de ração
CV	- coeficiente de variação
Ig	- imunoglobulinas
g	- gramas
mg	- miligramas
Mort	- mortalidade
kg	- quilograma
p	- probabilidade
UI	- unidade internacional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 SISTEMA DIGESTÓRIO E SEU DESENVOLVIMENTO.....	19
2.2 SISTEMA IMUNOLOGICO	23
2.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	27
2.4 NOVOS FOCOS DA NUTRIÇÃO	28
2.5 ÁCIDOS ORGÂNICOS	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 LOCAL E INSTALAÇÃO	37
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	38
3.3 EQUIPAMENTOS E MANEJO	39
3.4 RAÇÕES EXPERIMENTAIS.....	39
3.5 VACINAÇÃO	41
3.6 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	42
3.6.1 Desempenho	42
3.6.2 Imunidade humoral.....	43
3.6.3 Morfometria intestinal	43
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 DESEMPENHO	47
4.1.1 Ganho de Peso (GP)	49
4.1.2 Consumo de Ração (CR)	50
4.1.3 Conversão Alimentar (CA).....	52
4.1.4 Mortalidade (Mort)	54
4.2 IMUNIDADE HUMORAL.....	56
4.3 MORFOMETRIA INTESTINAL	61
5 CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos, a avicultura brasileira tem sofrido mudanças importantes, apresentando altos índices de crescimento e situando-se na atualidade como o maior exportador, e o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo. Mas isso se deve graças ao esforço em conjunto de diferentes entidades (tanto públicas como privadas) que simultaneamente colaboraram para que se produzissem as condições necessárias para o fortalecimento deste setor. Genética de ponta, aplicação de novas tecnologias em relação às instalações, manejo eficiente e alimentação adequada são necessários para obter uma produção eficiente.

É importante considerar que o sucesso da indústria avícola, ao mesmo tempo em que traz aumento da oferta, faz com que se reduzam os preços internacionais da carne, e conseqüentemente, há a necessidade de elevar a produtividade e diminuir os custos de produção. Para redução nos custos e aumento da eficácia econômica é imprescindível o uso de tecnologias modernas, e de insumos que melhorem a produtividade. Os antibióticos e quimioterápicos foram por muito tempo utilizados com finalidades profiláticas e melhoradores de desempenho animal. Porém, devido às tendências atuais de consumo, voltadas à produção de alimentos seguros, o uso de antibióticos como promotores de crescimento será completamente banido da Comunidade Européia em janeiro de 2006 (BELLAYER e SCHEUERMANN, 2004).

Diante deste quadro, a pesquisa se encarregou de gerar novos aditivos que possam suprir os antibióticos, como probióticos, prébióticos, ácidos orgânicos entre outros.

O uso de ácidos orgânicos na alimentação de aves é freqüentemente discutido por nutricionistas e patologistas. Resultados contraditórios têm sido encontrados. No entanto,

mundialmente, o emprego destes aditivos tem crescido e os técnicos devem estar preparados para avaliar os benefícios inerentes do uso destas substâncias (PENZ; SILVA e RODRIGUEZ, 1993).

Com isso, os objetivos do presente estudo foram determinar e analisar o efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, como aditivos nas dietas de frangos de corte, sobre a resposta imunológica, a morfologia intestinal e o desempenho, comparando-os aos resultados obtidos com o uso dos antibióticos promotores de crescimento.

No presente estudo formulou-se a hipótese de que os resultados obtidos com o uso de ácido butírico associado ao ácido láctico na ração de frangos de corte seriam superiores ao grupo controle (ausente de aditivos promotores de crescimento) e similar ao grupo com promotor de crescimento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo, serão revistas as principais características do sistema digestório, imunológico e os novos focos da nutrição das aves domésticas.

2.1 SISTEMA DIGESTÓRIO E SEU DESENVOLVIMENTO

A sobrevivência e bom desempenho ontogenético das aves dependem da obtenção adequada de energia e compostos químicos (água, sais minerais, lipídios, carboidratos, vitaminas e aminoácidos). Entretanto, para que isso ocorra, o sistema digestório deve apresentar características estruturais que possibilitem a ingestão e a passagem do alimento pelo trato, as alterações físicas e químicas do alimento e a absorção dos produtos da digestão. Além disso, a barreira contra agentes patogênicos presentes no lúmen intestinal é importante para a prevenção de enfermidades entéricas (BOLELI; MAIORKA e MACARI, 2002).

O sistema digestório corresponde a um tubo por onde o alimento ingerido transita, sendo digerido e absorvido para ser incorporado ao organismo animal (ITO et al., 2004).

Da região anterior para a posterior, as estruturas tubulares que compõe o sistema digestório das aves são: cavidade oral, esôfago, papo, proventrículo, moela e intestinos. A eles também estão conectadas duas glândulas anexas, o fígado e o pâncreas (BOLELI; MAIORKA e MACARI, 2002).

O intestino das aves é representado por duas regiões distintas: o intestino delgado, que em uma ave adulta tem em média 1,5 metros e é composto por três regiões (duodeno, jejuno e

íleo) que apresentam diferenças funcionais e morfológicas e o intestino grosso que é relativamente pequeno nas aves e compreende o colón, ceco e o reto (ITO et al., 2004).

Quanto à histologia do intestino delgado das aves, é constituída por quatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (TURK, 1982). Entretanto, a mucosa intestinal não apresenta as pregas macroscópicas observadas em mamíferos, mas possui muitas dobras microscópicas denominadas vilosidades ou vilos, que proporcionam um aumento na superfície interna do órgão, ou seja, na área de digestão e absorção intestinal (MAIORKA; BOLELI; MARCARI, 2002). A altura, a forma dos vilos e a profundidade das criptas não é a mesma ao longo do intestino, decrescendo desde o duodeno ao íleo.

A massa intestinal incrementa seu peso mais rapidamente que a total do corpo. Este processo de rápido crescimento tem o seu pico entre 6 a 10 dias nos pintinhos (SELL et al., 1991). Imediatamente depois da eclosão, os enterócitos incrementam rapidamente seu comprimento e desenvolvem uma pronunciada estrutura, definida como borda em escova (GEYRA et al., 2001).

A maturação intestinal é fundamental para o bom desenvolvimento animal no período pós-eclosão, pois dela depende a digestão e absorção adequada dos nutrientes provenientes da dieta exógena (MORAN, 1985). O acesso aos nutrientes ao redor de 24 horas depois da ingestão exógena do alimento imediatamente após a eclosão resulta no desenvolvimento mais rápido do sistema gastrintestinal do pintinho (SKLAN, 2001).

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento em número de suas células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas). Esse processo decorre primariamente de dois eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos, e perdas de células, que ocorre normalmente no ápice dos vilos (UNI et al., 1998).

O equilíbrio entre esses dois processos determinam um *turnover* (síntese de migração –extrusão) constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos e , portanto, a manutenção da capacidade digestiva e de absorção intestinal. Quando o intestino responde a algum agente com um desequilíbrio no *turnover* a favor de um desses processos, ocorre uma modificação na altura dos vilos. Se o estímulo levar a um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição da taxa de proliferação, o intestino deverá responder com uma redução na altura dos vilos e conseqüentemente, com uma diminuição na sua capacidade de digestão e absorção. Assim, a redução na altura dos vilos ocorre devido a uma menor taxa de proliferação e/ou aumento na taxa de extrusão (PLUSKE et al., 1997).

No período de 20 a 30 dias, o intestino está completamente formado anatômica e funcionalmente. Seu peso aumenta em 27 vezes desde sua formação embrionária até sua total maturação (ITO et al., 2004).

O desenvolvimento dos diferentes segmentos do intestino ocorre de maneira distinta (SKLAN, 2001). De acordo com o estudo realizado por Bayer et al. (1975), verificou-se que o desenvolvimento da superfície do intestino delgado se inicia no duodeno, em seguida no jejuno e posteriormente no íleo.

O comprimento e o diâmetro do intestino variam de acordo com diversos fatores, tais como, o tipo de dieta, a presença de aditivo alimentar ou promotor de crescimento adicionado à ração, presença de flora bacteriana, incidência de doenças entéricas e intensidade de desenvolvimento corporal na fase inicial até 14 dias de idade (ITO et al., 2004). Van Leeuwen et al. (2004) demonstraram que a orientação das vilosidades é diferente nos diversos segmentos intestinais e que isto é influenciado pela idade, aditivos na dieta e microflora do intestino, afetando o rendimento do frango de corte.

No duodeno e jejuno, ocorre a absorção de vitaminas, aminoácidos, minerais e drogas que foram solubilizadas na moela sob a ação de ácido clorídrico. Também ocorre a absorção

de nutrientes que já sofreram a ação de enzimas pancreáticas e duodenais, como carboidratos e proteínas. Já no ceco ocorrem a absorção de aminoácidos, gases, água, eletrólitos, nitrogênio, ácidos graxos de cadeia curta e produtos gerados pela digestão e fermentação microbiana, além do equilíbrio hídrico e iônico (ITO et al., 2004).

As taxas de absorção intestinal estão diretamente relacionadas com as taxas de proliferação e diferenciação celular, pois quanto maiores os vilos e sua densidade, maiores serão as áreas de absorção. Assim, lesões no epitélio intestinal podem diminuir a absorção de nutrientes, entretanto sua reposição pode resultar em melhor utilização de nutrientes (TURK, 1982).

A absorção dos nutrientes é maior à medida que passam os dias desde a eclosão, devido a maior produção de enzimas, tendo um menor tempo de trânsito do alimento pelo intestino e aumentando a quantidade de alimento consumida por dia (NOY e SKLAN, 1995).

O frango de corte hospeda no seu trato digestivo uma quantidade significativa de bactérias cuja distribuição é variada e diferente de acordo com a região. Aparentemente os principais fatores que limitam ou modificam a presença de determinadas bactérias na luz do intestino são: disponibilidade de oxigênio, mudanças do pH luminal, concentração de sais biliares e a presença de bacteriocinas e ácidos graxos voláteis (ITO et al., 2004).

O rápido e adequado ganho de peso por parte das aves está diretamente relacionado com a nutrição das mesmas, e é imprescindível que se estabeleçam critérios de manejo que mantenham a integridade morfofuncional dos diferentes tipos celulares que compõem e caracterizam os órgãos do sistema digestório e o controle das enfermidades entéricas que diminuem a eficiência funcional do sistema em questão (BOLELI; MAIORKA e MARCARI, 2002).

2.2 SISTEMA IMUNOLÓGICO

A produção eficiente das aves depende do funcionamento adequado do sistema imunológico, que possibilita a defesa do organismo dos patógenos. Por essa razão, o principal objetivo dos geneticistas que selecionam aves de produção é aumentar a resistência natural às infecções (LAMONT, 1994). O sistema imune protege o organismo animal contra agentes estranhos, tais como bactérias e vírus (TURNER, 1981). Em alguns casos, a resposta imune não pode apresentar um papel protetor na fisiologia animal, quando inadequada é capaz de causar doença, podendo representar risco à saúde do indivíduo, como no caso das doenças imunomediadas (MORGULIS, 2002).

O sistema imunológico das aves funciona de maneira semelhante ao dos mamíferos, mas existem algumas diferenças importantes, como a estrutura e a diferenciação dos órgãos linfóides (JEURISSEN et al., 1994).

O frango (é originado do cruzamento de linhagens de *Gallus gallus*, portanto,) não apresenta linfonodos. Da mesma forma, as aves apresentam um órgão único, denominado Bolsa de Fabricius, que possibilitou a identificação dos linfócitos B (GLICK, 1995). O timo apresenta-se na forma de dois cordões de sete lobos cada, dispostos paralelamente ao longo das jugulares. Nessa espécie, é encontrada uma concentração de tecido linfóide na região óculo nasal denominada glândula de Harder. Também estão presentes os tecidos linfóides intestinais e associadas aos brônquios. A medula óssea e a Bolsa de Fabricius (local do desenvolvimento e diferenciação dos linfócitos B) são responsáveis pela produção de anticorpos e o timo é o local onde os linfócitos T desenvolvem-se e se diferenciam. Estas estruturas são responsáveis pelas reações de hipersensibilidade e citotoxicidade mediada por células e são considerados órgãos linfóides primários. Já o baço é classificado como órgão

linfóide secundário ou periférico. As estruturas linfóides encontradas no trato gastrointestinal representam parte importante do sistema imunológico, principalmente devido ao fato de existirem inúmeros patógenos que podem estar multiplicando-se na luz do tubo digestivo (MORGULIS, 2002).

A resposta imunológica é dependente de três tipos de células: macrófagos, linfócitos B e linfócitos T. Em termos de desenvolvimento, estas células se originam da mesma célula peduncular dentro do mesênquima embrionário e saco vitelino no embrião e são supridas pela medula óssea nas aves mais velhas. Estas células pedunculares se diferenciam em macrófagos, e outros leucócitos, ou entram nos órgãos linfóides primários para maior desenvolvimento. Durante a primeira semana do desenvolvimento embrionário, os linfócitos se multiplicam e se diferenciam dentro do timo e da bolsa de Fabricius e tornam-se seletivos para gerar respostas aos diversos antígenos que vão enfrentar durante a vida da ave. A partir da terceira semana de desenvolvimento embrionário, os linfócitos B e T migram da bolsa de Fabricius e do timo, respectivamente, para o sistema linfóide periférico, que inclui o baço, a medula óssea e agregados linfóides nos sistemas respiratórios e digestivos (QURESHI, 1998).

O sistema imunológico das aves apresenta dois tipos de resposta: a humoral e a celular. A imunidade humoral é caracterizada por uma função adaptativa do sistema imunológico através do qual os anticorpos são produzidos em resposta a um antígeno. A imunidade celular envolve mecanismos através dos quais células infectadas com agentes estranhos, tais como vírus, são destruídos, o que é feito diretamente por um efetor (célula T ativada) em contato com a célula ativada. A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra bactérias, enquanto que a imunidade mediada por células é a proteção contra vírus. As células B podem ser induzidas à divisão e à especialização, e são capazes de reconhecer os anticorpos sanguíneos, com uma vida média de 3 a 5 dias. Algumas células têm um sistema de memória, e que é ativado quando ocorre a segunda exposição ao antígeno,

reconhecendo-o novamente, esta ação é importante no desenvolvimento da resposta imune através da vacinação. As células T desde o timo, por outro lado, respondem aos antígenos com uma produção da célula efetora e também das células de memória (AMOS, 1981).

Os linfócitos são produzidos e programados pela bursa (células B) e o timo (células T). A bursa alcança seu tamanho e atividade máxima, duas semanas após a eclosão e há um pequeno desenvolvimento novamente depois da 8^a a 12^a semana de vida (TURNER, 1981).

A imunidade humoral e a imunidade mediada por células têm funções únicas, mas funcionam de forma conjunta para debelar o agente invasor. A imunidade humoral é estimulada pelas Ig produzidas pelos linfócitos B. A célula B usa o antígeno apresentado pelo macrófago para construir uma Ig específica, mas ela requer assistência de uma célula T auxiliar ativada para produzir uma Ig específica. Então a célula B ativada prolifera em plasmócitos (produtores de Ig) ou em células de memória, que podem ser rapidamente recrutadas para produzir Ig se houver novo contato com o agente infeccioso. A Ig liga-se ao seu patógeno alvo específico e a inativa, ou o marca para ser destruído por outro mecanismo do sistema imunológico. As imunoglobulinas são classificadas segundo sua estrutura molecular como IgM, IgE, IgD, IgA e IgG, e cada uma desempenha um papel diferente durante a resposta imunológica. Avaliar o estado imunológico é importante para compreender a etiologia de uma doença e determinar possíveis soluções ou medidas preventivas. A avaliação humoral estima a capacidade da ave em estabelecer uma resposta imunológica através de níveis de Ig no plasma ou no soro (QURESHI, 1998).

Os diversos linfócitos serão produzidos em resposta a uma infecção natural ou vacinal. A vacina possui um vírus vivo atenuado, morto ou inativo que sensibiliza o sistema imune. A resposta à vacinação leva alguns dias para desenvolver-se e é de pouco uso para o pintinho de um dia de idade que é muito susceptível a uma infecção natural antes que a vacina chegue a ter efeito. Para esta reação a ave adulta passa alguma imunidade para o pintinho

através do ovo. Esta imunidade de curta duração é freqüentemente conhecida como imunidade maternal ou passiva. Esses anticorpos maternos são chamados de imunoglobulinas G e A (LESSON e SUMMERS, 2000).

A extensão de um efetivo programa de vacinação é influenciado pelo estado nutricional da ave. Se a ave recebe uma dieta nutricionalmente adequada, a imunidade será conseqüentemente afetada de forma positiva (LESSON e SUMMERS, 2000).

Diversos fatores interferem na resposta imune das aves. Assim, esforços devem ser feitos para melhorar a imunidade, não somente por meio da seleção genética, mas também utilizando as tecnologias disponíveis para modular a resposta imune, no sentido de diminuir as perdas decorrentes das doenças (QURESHI et al., 1998).

As causas de alteração da resposta imune podem ser classificadas em três categorias: fatores nutricionais, fatores genéticos e fatores relacionados ao manejo (MORGULIS, 2002). Os estudos em nutrição determinam níveis ótimos dos diferentes nutrientes para o crescimento, ganho de peso e conversão alimentar máximos. No entanto, esses níveis de nutrientes podem não ser suficientes para uma resposta imune adequada (KLASING, 1998).

Klasing (1998) classificou em várias categorias os mecanismos pelos quais é possível a modulação da resposta imune pela nutrição e destacou a utilização dos nutrientes por parte do sistema imune como substratos para a proliferação celular e produção de moléculas fundamentais para uma resposta de defesa. Além disso, nutrientes como os ácidos graxos e vitaminas têm uma ação regulatória direta sobre os leucócitos e, os aspectos físicos - químicos da dieta podem alterar a população de microrganismos presentes no trato gastrintestinal, dificultando a adesão de patógenos ao epitélio.

Qureshi (2002) cita que uma melhora imunológica via alimentação poderia reduzir a necessidade do uso de substâncias químicas melhoradores do crescimento tais como antibióticos. A melhora imunológica é um aspecto desejável na produção avícola, mas

simultaneamente devem-se considerar os possíveis efeitos patológicos mediados via uma superestimulação do sistema imunológico.

2.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

O teste de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) é uma reação sorológica que se baseia no uso de antígenos e anticorpos marcados com enzimas, na qual o complexo resultante possui atividade imunológica e enzimática. Por possuir um de seus componentes (antígeno ou anticorpo) marcados com uma enzima ligada a um suporte imunoabsorvente, o complexo formado torna-se imobilizado. Dessa forma, com a adição de um substrato cromogênico específico à enzima, ocorrerá o desenvolvimento da revelação sob a forma de cor. O teste de ELISA detecta e mensura principalmente as Ig do tipo Ig G, podendo detectar quantidades muito pequenas de anticorpos. É uma técnica simples, específica, sensível, rápida e automatizada, podendo ser empregado para o diagnóstico da DNC (Doença de Newcastle). É importante salientar que não devem ser comparados resultados de dois métodos sorológicos distintos, dado que cada método mede a formação de complexo antígeno-anticorpo de maneira distinta, existindo também variações na tomada de amostras em uma população de aves. Por essa razão, muitas vezes se acompanham níveis de títulos individuais com uma média geométrica de título (GMT) de anticorpos para a população de aves. A análise dos resultados sorológicos e a perfeita interpretação dos títulos de anticorpos permitem uma avaliação precisa e coerente do programa de vacinações (SANTOS e SILVA, 2000).

2.4 NOVOS FOCOS DA NUTRIÇÃO

Durante os últimos 20 anos, o desenvolvimento da nutrição de aves tem ocorrido em paralelo ao aumento da produtividade de diversas espécies de aves. As metas e condições de produção têm sofrido mudanças. Estas variações têm causado algum grau de complicação nos programas de alimentação, já que as recomendações globais são freqüentemente não aplicáveis. Devido ao fato de que a alimentação representa o maior custo de produção, existe uma contínua necessidade de avaliar novos ou diferentes ingredientes e reexaminar os ingredientes tradicionais (LEESON e SUMMERS, 1997).

Produtores, nutricionistas e geneticistas estão agudamente conscientes dos desafios a serem enfrentados na indústria da produção animal e freqüentemente a resposta ao desafio pode ser convertida em uma oportunidade. Em um mercado altamente competitivo estes são os primeiros a responder com sucesso adquirindo uma vantagem com o crescimento nas vendas através do sucesso do marketing, criando potencial para ser o melhor preparado para enfrentar os desafios. Até recentemente o objetivo de formular dietas com baixos custos foi realizado com ótimos ganho de peso vivo e eficiente conversão alimentar em base de nutrientes mínimos e a menor custo. Enquanto que, investigações e pesquisas têm demonstrado que certos ingredientes ou aditivos alimentares têm valor, particularmente em termos de promover a saúde e merecem seu uso em maiores quantidades que seriam especificadas nas formulações de dieta de menor custo ou para estimar requerimentos mínimos (WILLIAMS, 1997).

Fatores de crescimento não identificados, antibióticos e outros estimulantes de crescimento estão sendo continuamente pesquisados em relação aos seus papéis específicos no estímulo de crescimento e bem estar das aves. Ocorrem muitas interações e

freqüentemente observa-se que um nutriente específico limita ou aumenta a disponibilidade e/ou assimilação de outros nutrientes. Ainda o efeito dos antibióticos a níveis reduzidos na dieta sugere que estes atuem favorecendo o crescimento, independentemente de efetuar um controle para doenças. Este efeito benéfico demonstra ser superior quando as aves são criadas em galpões velhos e não limpos sob condições de manejo relativamente ruins, quando comparados a galpões novos ou naqueles onde um programa de limpeza e desinfecção rigorosa é efetuado (MORENG e AVENS, 1990).

Existe ainda um número de antibióticos disponíveis na indústria avícola que são eficazes contra várias bactérias e fungos. O principal problema em relação aos antibióticos em geral é o desenvolvimento de resistência microbiana, que influencia no rendimento da ave e potencialmente na saúde humana. Este problema é muito menos agudo com as matrizes reprodutoras já que os antibióticos não são usados na rotina como no caso dos frangos de corte como promotores de crescimento, existindo riscos menores em desenvolver-se resistência com o uso descontinuo (LESSON e SUMMERS, 2000).

Estudos com pintinhos livres de microorganismos e compostos antimicrobianos têm indicado uma interação significativa entre os nutrientes e a microflora intestinal do hospedeiro. Esta interação foi importante na decisão da União Européia em remover vários agentes antimicrobianos para o uso na alimentação animal. A remoção dos antibióticos como promotor de crescimento provavelmente aumentará a variabilidade do rendimento do frango de corte.. A inferior qualidade dos alimentos e o maior desafio microbiano será o maior problema (BEDFORD, 2000).

Diversos estudos mostram que a simples retirada dos antibióticos promotores de crescimento da dieta de frangos leva a uma diminuição média no desempenho das aves de 3 a 7%. Além disso, há um impacto negativo sobre a saúde animal e um aumento na mortalidade. Embora se discuta a relevância prática destes estudos, há um consenso geral de que uma

proibição total dos antibióticos promotores de crescimento resulte em uma menor lucratividade para o setor. Está claro que em dietas sem antibióticos promotores de crescimento há uma necessidade de se introduzir estratégias novas a fim de contornar os efeitos negativos sobre o desempenho e a saúde das aves mencionadas anteriormente (LANGHOUT, 2005).

Aditivos alimentares que aumentem o crescimento e a produção de ovos têm sido propostos ao longo de muitos anos. Somente aqueles que têm dados de testes resultantes de estudos cuidadosos em laboratórios de pesquisas e que tem provado por si mesmo, serem seguros e efetivos no campo, têm sido preconizados para o uso na indústria avícola. A utilização destes produtos deve ser realizada com muito cuidado, a despeito das perspectivas promissoras relativas às vantagens econômicas e nutricionais (MORENG e AVENS, 1990).

Atualmente, há uma gama de novos aditivos alimentares com diferentes mecanismos de ação, disponíveis no mercado. Entre eles podem ser citados os probióticos, os prebióticos, as enzimas, os sequestrantes e os ácidos orgânicos. Os probióticos introduzem bactérias desejáveis no trato gastrintestinal estabilizando a flora intestinal normal durante os primeiros dias de vida da ave; os prebióticos que promovem o crescimento da flora bacteriana desejável já estabelecida; as enzimas através da otimização da digestão; os sequestrantes que reduzem da ingestão de substâncias imunossupressoras como as micotoxinas e ácidos orgânicos reduzindo a carga bacteriana no trato digestivo entre outros (BELLAYER e SCHEUERMANN, 2004).

2.5 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Por definição, ácidos orgânicos são substâncias que têm uma carboxila na molécula. Assim, todos os ácidos graxos e mesmo os aminoácidos são ácidos orgânicos além de muitas outras substâncias que se enquadram nesta classificação. Aqui cabe fazer uma primeira ressalva sobre esse termo genérico. Quando o termo ácido orgânico é empregado, subentende-se que se trata de ácidos graxos voláteis, de cadeia curta e que eventualmente podem ser chamados de ácidos fracos (tem menor proporção de carboxilas que os ácidos fortes) (PENZ; SILVA e RODRIGUES, 1993).

Os ácidos orgânicos são comumente encontrados na natureza como componentes normais de tecidos vegetais e animais. Além disso, são formados através da fermentação microbiana no trato intestinal constituindo parte importante do suprimento energético dos animais hospedeiros. Já foi bem estabelecido que os ácidos orgânicos possuem fortes propriedades antimicrobianas. Por esse motivo, os ácidos orgânicos são amplamente utilizados na indústria alimentícia e de nutrição animal para controlar o crescimento de bactérias e fungos. Além disso, têm sido utilizados com sucesso na dieta de leitões para prevenir distúrbios digestivos pós-desmame. Estes efeitos positivos dos ácidos orgânicos podem ser explicados por diversos mecanismos, incluindo redução do pH, propriedades bacteriostáticas e diversas propriedades metabólicas da porção aniônica dos ácidos orgânicos após a dissociação (BELLAYER e SCHEUERMANN, 2004).

Segundo Adams (1999) citado por Bellaver e Scheuermann (2004), as funções dos ácidos orgânicos são variadas e amplas e nem todas estão relacionadas à nutrição: produzem acidez, a qual, por sua vez age como flavorizante e também retarda a degradação enzimática. Atuam como agentes quelantes que se ligam a metais formando os quelatos metálicos,

prevenindo ou reduzindo a oxidação oriunda da catálise dos metais-ions. Agem diretamente como fortes inibidores do crescimento microbiano podendo ter uso na sanitização de carnes.

Muitas vezes há falta de consistência nos resultados dos ácidos orgânicos devidos a falta de controle nas variáveis intervenientes, tais como pH do trato digestivo, capacidade tampão dos ingredientes da dieta, condição higiênica do ambiente produtivo, heterogeneidade da flora intestinal e resistência inerente dos microrganismos (PENZ; SILVA e RODRIGUES, 1993).

As razões que fazem com que os ácidos orgânicos tenham influencia nutricional em frangos estão associadas à produção insuficiente de ácido clorídrico para dietas de alta capacidade tamponante (alta proteína e macroelementos) e também devido a carga microbiana atuante sobre os animais (BELLAVÉR e SCHEUERMANN, 2004)

Os ácidos orgânicos são facilmente absorvidos através da parede celular das bactérias. Uma vez na célula, a porção aniônica do ácido danifica a estrutura do DNA no núcleo das células e, conseqüentemente, as bactérias não se dividem ou podem morrer. A porção catiônica liberada dos ácidos reduz o nível do pH da célula, obrigando a célula bacteriana a utilizar sua energia para liberar os prótons, levando a uma exaustão celular (LANGHOUT, 2005).

O modo de ação dos ácidos orgânicos tem sido o ponto mais contraditório pela falta de informação conclusiva destes aditivos. Inicialmente é importante que seja reforçado o conceito de dissociação dos ácidos, pois, aparentemente, é através da capacidade de doar próton (hidrogênio) mais efetivamente ou não, em diferentes meios, é que faz com que estas substâncias atuem contra microorganismos e favoreçam o aproveitamento dos nutrientes pelo animal hospedeiro (PENZ; SILVA e RODRIGUES, 1993).

Todo ácido tem uma ou mais constantes de dissociação (K_a), que podem ser representadas pelo potencial de dissociação pK_a (que é o logaritmo negativo da constante de

dissociação) e que identificam sua capacidade acidificante. Quanto mais fácil um ácido doa seu(s) hidrogênio(s) para o meio, mas forte ele é considerado (MURRAY et al., 1990). É entendido por potencial de dissociação pK_a o pH em que metade da substância encontra-se na forma não dissociada. Assim, por exemplo, o ácido fórmico, tem um pK_a de 3.75. Isto representará que em um meio com pH 3.75 metade do ácido encontra-se na forma dissociada e metade na forma não dissociada. Quando um ácido tem mais de um pK significa que tem mais de um próton para ser trocado. Isto aumenta a capacidade acidificante do aditivo (LEHNINGER, 1975).

Na tabela 1 estão apresentados valores de potencial de dissociação (pK_a) de alguns ácidos empregados como acidulantes de ração.

Tabela 1 - Potencial de dissociação de acidulantes empregados em ração

Ácido Fosfórico	2,12; 7,21 e 12,32
Ácido Tartárico	3,02 e 4,54
Ácido Fumárico	3,03 e 4,47
Ácido Cítrico	3,06; 4,74 e 5,40
Ácido Málico	3,40 e 5,05
Ácido Fórmico	3,75
Ácido Láctico	3,86
Ácido Oxálico	4,21
Ácido Acético	4,76
Ácido Butírico	4,82
Ácido Propiônico	4,87

Fonte: Penz, 1993.

O ácido butírico é um produto da fermentação bacteriana dos carboidratos no rúmen de poligástricos e no cólon de onívoros como os humanos (KIEN et al., 2000).

Kien et al. (2000) encontraram evidências de que o ácido butírico é produzido por leitões através de tecidos não drenados pela veia porta. Não obstante, o butirato de sódio tem funções nos processos moleculares e ademais é um composto que tem estado presente nos organismos primitivos multicelulares, inclusive bactérias. Pode ser sintetizado de maneira

endógena, e deste modo poderia ter tido efeitos regulatórios em células biológicas em um estágio inicial da evolução.

Gong et al. (2002) detectaram em estudos de análises moleculares de bactérias presentes no íleo, a presença de *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus cecorum* e bactérias produtoras de butirato como os três maiores grupos de bactérias encontradas no íleo e ceco. O butirato é preferencialmente transportado pelas células epiteliais das vísceras e seus efeitos benéficos são conhecidos em animais. Por essa razão, as bactérias produtoras de butirato em vísceras de humanos, recentemente tem atraído a atenção nas pesquisas. O potencial das bactérias produtoras de butirato como promotor de crescimento para a avicultura pode justificar outras investigações depois da verificação da presença da bactéria nas vísceras dos pintinhos.

A quantia de ácido butírico encontrada no intestino foi pequena em camundongos desmamados tratados com penicilina, devido ao efeito deste último em relação às bactérias bacilo fusiformes. Já sem o tratamento de penicilina observou-se uma maior presença de ácido butírico, e uma reduzida população de coliformes. Este efeito inibitório deveu-se a atividade antibacteriana do ácido butírico através da modificação do pH intestinal (LEE e GEMMELL, 1972).

Mathew et al. (1994) ao estudarem os efeitos intestinais de leitões desmamados, observaram um declínio na concentração dos ácidos graxos voláteis no intestino delgado durante o desmame, com uma diminuição dos lactobacilos totais, refletindo declínios na microflora endógena após a transição das dietas dos leitões de leite por rações secas. Baixas concentrações de ácidos graxos voláteis poderia ser um fator seletivo na colonização de certas bactérias, já que os ácidos graxos voláteis teriam efeito inibitório de algumas espécies sob organismos entéricos, incluindo a *Echericha coli*.

Dietas para leitões utilizando butirato de sódio em baixas concentrações como aditivos, podem aumentar o ganho de peso corporal diário (devido ao incremento de consumo da ração), e aumento na conversão alimentar reduzindo a utilização do alimento. Além disso, o uso de butirato de sódio, pode reduzir a porcentagem de proporção das bactérias coliformes em relação aos *Lactobacillus sp.*, aumentando o comprimento das micro vilosidades do íleo e a superfície de absorção. Portanto, o butirato de sódio pode ser recomendado para alimentação em leitões como promotor de crescimento (GALFI e BOKORI, 1990).

A adição de ácidos graxos de cadeia curta é uma prática comum no processamento do alimento a fim de reduzir a contaminação bacteriana, já que tem sido demonstrado que eles possuem propriedades bactericidas e bacteriostáticas (JAY, 1997).

Van Immerseel et al. (2003), ao estudarem a interação *in vitro* entre *Salmonella sp.* tratada com ácido butírico e cultivos primários de células epiteliais cecais em frangos, observaram a invasão das salmonelas nas células epiteliais. No entanto o tratamento prévio da salmonela com o ácido butírico causou uma diminuição significativa na invasão bacteriana nas células epiteliais de origem cecal. Por outro lado, no tratamento prévio com ácido acético houve aumento no grau de invasão. Essas interações de salmonelas com cultivos de células epiteliais cecais foram similares às interações observadas com outros tipos de células epiteliais.

Galfi et al. (1985) investigaram o efeito de lactato de sódio, propionato, butirato e cloreto de sódio adicionados na dieta de pintinhos de cinco dias de idade. Depois de duas semanas de tratamento, a espessura relativa do extrato córneo do intestino dos pintinhos aumentou significativamente somente no grupo com butirato, concluindo-se que o efeito estimulante do butirato na queratinização não é restrita ao epitélio ruminal.

Van Der Wielen et al. (2000), concluíram em suas investigações, que os ácidos graxos voláteis produzidos no ceco de pintinhos em crescimento são responsáveis pela redução no número de *Enterobacteriaceae* presentes na flora microbiana.

De acordo com Yasui, et al. (1999), as bactérias produtoras de ácido láctico junto a seus componentes podem atuar no sistema imune, em muitos casos aumentando a resposta imune. Este fenômeno poderia ocorrer devido ao efeito dos ácidos liberados pelos microrganismos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritas as principais etapas da realização do experimento.

3.1 LOCAL E INSTALAÇÃO

O experimento foi conduzido no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, *Campus* Pirassununga, Estado de São Paulo, localizado a 21°8” de latitude sul e 47°25’42” de longitude oeste, a uma altitude de 634 metros. O clima da região é subtropical, com inverno seco e verão quente e chuvoso.

Foi ocupado um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4.25 m² cada um, sendo a criação dos animais realizada em piso.

O experimento foi realizado no segundo semestre de 2005, no período compreendido entre o dia 10 de novembro a 19 de dezembro de 2005, totalizando 39 dias de criação.

As leituras das temperaturas máximas e mínimas foram feitas diariamente em um termômetro colocado no galpão, sendo as médias das temperaturas máxima, mínima e média de 31; 21,8 e 26,4°C, respectivamente.

Durante o período de alojamento das aves, as condições ambientais mostraram os índices padrões da região, não tendo havido ocorrência climática anormal que pudesse provocar alterações no peso das aves ou em sua produtividade.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 1400 pintainhos de um dia de idade, da linhagem comercial Ross especializada para corte, selecionando somente machos, com um peso médio de 42 gramas, que foram criados até os 39 dias de idade.

Os animais foram distribuídos em 35 parcelas experimentais (boxes) com 40 aves cada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e sete repetições. O arranjo de tratamento é do tipo fatorial $2 \times 2 + 1$, com os fatores correspondentes respectivamente: sem e com ácido butírico, sem e com ácido láctico e antibiótico. Desta forma os tratamentos foram:

Tratamento N° 1: Ausência de aditivos (Controle).

Tratamento N°2: Ácido Láctico.

Tratamento N°3: Ácido Butírico.

Tratamento N°4: Ácido Butírico associado ao Ácido Láctico.

Tratamento N°5: Avilamicina (Antibiótico promotor de crescimento).

As variáveis de desempenho das aves (ganho médio de peso diário, consumo médio de ração, conversão alimentar e mortalidade) foram mensuradas no período da fase inicial, crescimento, final e período total da criação. Para as variáveis relacionadas à imunidade (Teste de ELISA), foram avaliados os soros das aves colhidos aos 14, 28 e 35 dias de idade. As amostras para as análises de histologia foram coletadas no dia do abate dos frangos (39 dias de idade).

3.3 EQUIPAMENTOS E MANEJO

O manejo e os equipamentos utilizados no experimento foram os convencionalmente utilizados na criação de frangos de corte, adequando-os às condições do aviário experimental.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas de forma inteiramente casualizada nos boxes. Foram realizados diariamente os manejos de cortina de acordo com as condições ambientais, uso de lâmpadas (como fonte calor) para aquecer os animais durante as primeiras duas semanas de idade, além da lavagem de bebedouros e observação do nível de ração nos comedouros. O material utilizado como cama foi a casca de arroz.

3.4 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

As rações foram formuladas de acordo com os níveis nutricionais praticados na criação comercial de frangos de corte, com os diferentes aditivos. Foram cinco tratamentos que se diferenciam quanto ao tipo de aditivo utilizado. Os aditivos (Ácido Butírico, Ácido Lático e Antibiótico) em pó foram adicionados à ração juntamente com os outros ingredientes, diretamente no misturador. Os aditivos em estudo não foram administrados na última fase de criação, seguindo recomendações do fabricante. As rações foram elaboradas a base de milho e farelo de soja, sendo isoprotéicas e isoenergéticas. A alimentação foi dividida em três etapas: inicial (1 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 39 dias). Na tabela 2 observa-se a composição porcentual e o valor nutricional estimado das rações nas

diferentes etapas, além das dosagens dos aditivos em estudo, e na tabela 3 a suplementação vitamínico - mineral fornecido por kg de alimento.

Os diferentes tratamentos foram estabelecidos a partir da substituição do aditivo (antibiótico ou ácido orgânico) ajustando a dieta com material inerte.

Tabela 2 - Composição percentual e valor nutricional estimado das rações experimentais nas diferentes fases de criação

Ingredientes	Ração Inicial (%)	Ração Crescimento (%)	Ração Final (%)
Milho	52.26	57.11	63.70
Farelo de Soja	40.13	34.00	28.00
Óleo de Soja	3.52	4.90	4.50
Sal	0.35	0.35	0.35
Calcário	1.24	1.60	1.60
Fosfato Bicálcico	1.60	1.14	0.95
Metionina	0.24	0.21	0.18
Suplemento Vit-Min	0.30	0.30	0.30
Adsorvente	0.10	0.10	0.10
Antibiótico	0.01	0.01	-
Ácido Lático	0.20	0.15	-
Ácido Butírico	0.05	0.03	-
Inerte	0.26 - 0.01	0.29 - 0.11	0.32
Total	100	100	100
Valor nutricional estimado			
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	2950	3100	3150
Proteína (%)	22.5	20.0	18.0
Metionina (%)	0.35	0.32	0.30
Metionina + cistina (%)	0.71	0.65	0.60
Cálcio (%)	0.95	0.95	0.90
Fósforo disponível (%)	0.45	0.35	0.30

Tabela 3 - Suplementação vitamínico-mineral (Vit.- Min.) por Kg de alimento utilizado.

Suplemento Vit.-Min. Inicial	Vit. A, 67500 UI; vit.D3, 13500 UI; vit K, 10.8 mg; vit. B2, 33.9 mg; vit. B12, 112.5 mcg; niacina, 223.95 mg; colina, 1867.5 mg; pantotenato de cálcio, 77.4 mg; ferro 420 mg; cobre, 375 mg; manganês, 435 mg; cobalto, 0.63 mg; iodo, 4.5 mg; selênio 1.56 mg; antioxidante (BHT), 38.4 mg; veículo qsq 30g.
Suplemento Vit.-Min. Crescimento	Vit. A, 56250 UI; vit.D3, 11250 UI; vit. K, 8.1 mg; vit. B2, 27 mg; vit. B12, 75 mcg; niacina, 188.1 mg; colina, 1464 mg; pantotenato de cálcio, 59.7 mg; ferro 420 mg; cobre, 52.5 mg; manganês, 435 mg; cobalto, 0.63 mg; iodo, 4.5 mg; selênio 1.29 mg; antioxidante (BHT), 38.4 mg; veículo qsq 1000g.
Suplemento Vit.-Min. Final	Vit. A, 56250 UI; vit.D3, 11250 UI; vit. K, 8.1 mg; vit. B2, 27 mg; vit. B12, 75 mcg; niacina, 188.1 mg; colina, 1464 mg; pantotenato de cálcio, 59.7 mg; ferro 420 mg; cobre, 52.5 mg; manganês, 435 mg; cobalto, 0.63 mg; iodo, 4.5 mg; selênio 1.29 mg; antioxidante (BHT), 38.4 mg; veículo qsq 1000g.

3.5 VACINAÇÃO

Os pintinhos foram vacinados contra a Doença de Marek, administrada no primeiro dia de vida (no incubatório). Posteriormente, no dia 14 de idade os pintinhos foram vacinados contra a Doença de Newcastle, via ocular, com a vacina da cepa VG/GA, viva e atenuada. As doses administradas foram utilizadas de acordo com a recomendação do fabricante (0,03 ml) utilizou-se o diluente do fabricante, na proporção de 30 ml/1000 doses vacinais.

3.6 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

A seguir serão descritas as variáveis avaliadas referentes ao desempenho animal, à imunidade humoral e à morfometria intestinal.

3.6.1 Desempenho

O peso das aves e o consumo de ração foram quantificados através dos controles (pesagens) no final de cada fase, de modo a determinar o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar nos períodos de 1 a 21 dias (Fase Inicial); 22 a 35 dias (Fase de Crescimento), de 36 a 39 dias (Fase Final) e período total (1 a 39 dias).

Os parâmetros de desempenho das aves foram determinados da seguinte maneira:

- Ganho de Peso Médio por Ave, em gramas, foi determinado pela diferença entre as pesagens inicial e final, dividida pelo número de aves de cada box.

- Consumo Médio de Ração por Ave, em gramas, foi obtido pela diferença entre a ração fornecida e a sobra de cada box, dividida pelo número de aves por Box.

- Conversão alimentar (CA), foi obtida pela relação entre o consumo médio de ração (g) das aves e seu ganho de peso (g).

- Mortalidade, em porcentagem, foi anotada diariamente e calculada pela divisão do número de aves que morreram no período experimental pelo número inicial de aves de cada box multiplicada por 100.

3.6.2 Imunidade humoral

Foi avaliado o estado da imunidade humoral das aves antes e após a aplicação da vacina, utilizando-se os resultados do Título Médio de Anticorpos, com emprego das reações do Teste ELISA.

Aos 14 dias de idade das aves, antes da vacinação, foram colhidas aleatoriamente as amostras de sangue de 14 aves por tratamento (duas de cada unidade experimental, identificadas individualmente), por meio da punção da veia ulnar. Posteriormente, aos 28 e 35 dias de idade, foram colhidas amostras de sangue das mesmas (14 aves de cada tratamento). Estas amostras foram centrifugadas para a obtenção do soro. Posteriormente, as amostras de soro foram submetidas ao Teste de ELISA para detectar e quantificar os anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle.

3.6.3 Morfometria Intestinal

Durante o abate (realizado no 39º dia de criação) foram colhidas amostras de intestino delgado para a observação e análise da morfologia do trato intestinal. Foram devidamente coletados fragmentos de um cm do duodeno, jejuno e íleo de sete aves por tratamento (uma por cada repetição). Os fragmentos foram imediatamente lavados com solução fisiológica e fixados em solução de Bouin, por 24 horas, desidratados com álcool, diafanizados, impregnados em xilol e incluídos em parafina. O método de coloração adotado foi o da hematoxilina e eosina.

Foram preparadas duas lâminas por segmento, de cada animal. Em cada lâmina foram colocados quatro cortes semi-seriados com seis micrômetros de espessura.

Com as lâminas prontas, foram efetuadas vinte medidas de vilosidades (mm) e vinte de profundidade de cripta (mm). As medidas de altura das vilosidades foram tomadas a partir da região basal, que coincide com a porção superior das criptas até o ápice, e as criptas, da base até a região de transição cripta:vilo.

As análises morfométricas dos segmentos do intestino delgado foram realizadas, no Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia em Alimentos do Campus de Pirassununga da Universidade de São Paulo, usando o microscópio de luz Zeiss Axioplan2 integrado ao software AxioVision 4 (sistema analisador de imagem) com aumento de 50 vezes.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1985), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas pelo Teste de Hartley (OTT, 1983). Os dados (variável dependente) que não atenderam a estas premissas foram submetidos à transformação logarítmica $[\text{Log}(X+1)]$ ou pela raiz quadrada $[\text{RQ}(X+1/2)]$.

Os dados originais ou transformados, quando este último procedimento foi necessário, foram submetidos à análise de variância que separou como causa de variação apenas o efeito de tratamento, por se tratar de um delineamento inteiramente casualizado,

utilizando-se o procedimento *General Linear Model* (PROC GLM do SAS). Para a separação dos efeitos de tratamentos foi utilizada a metodologia dos contrastes, admitindo-se um arranjo fatorial do tipo $2 \times 2 + 1$, como apresentado na Tabela 4. Os contrastes utilizados separaram em efeito de ácido butírico, efeito de ácido láctico, interação entre ácido butírico e ácido láctico, bem como efeito de antibiótico.

As análises referentes aos parâmetros zootécnicos (ganho de peso, consumo e conversão alimentar), morfometria intestinal e resposta imunológica foram analisados conforme descrito anteriormente. Para as análises imunológicas, foram adicionados os fatores medidas repetidos no tempo, referentes às semanas de colheita dos dados (Tabela 5). As probabilidades das interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisse, utilizando-se o comando REPEATED gerado pelo procedimento GLM (PROC GLM do SAS). Análises por tempo somente foram realizadas quando as interações entre tempo e tratamentos forem significativas. Para tal será utilizado o comando SLICE do GLM do SAS. Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

Tabela 4 - Esquema de contrastes para estudo de diferentes respostas e de interação

	Sem Ácido Butírico		Com Ácido Butírico		Antibiótico
	Sem Ácido Láctico	Com Ácido Láctico	Sem Ácido Láctico	Com Ácido Láctico	
Efeito de Ácido Butírico	-1	-1	1	1	0
Efeito de Ácido Láctico	-1	1	-1	1	0
Efeito de Interação	1	-1	-1	1	0
Efeito de Antibiótico	0	-1	-1	-1	3

Tabela 5 - Esquema de análise de variância para os parâmetros imunológicos com três medidas repetidas no tempo, em um delineamento inteiramente casualizado

Causas de Variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	4
Efeito de Ácido Butírico	[1]
Efeito de Ácido Lático	[1]
Efeito de Interação	[1]
Efeito de Antibiótico	[1]
Resíduo A	30
Parcela	34
Tempos	2
Interação Tempo x Tratamento	Resíduo B
Subparcelas	104

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no experimento, referentes ao desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal das aves.

4.1 DESEMPENHO

Os valores médios de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (Mort), dos frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos, nas fases: inicial, de crescimento, final e período total, estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 - Desempenho médio de frangos de corte na fase inicial, crescimento, final e total, em função dos diferentes tratamentos

Parâmetros	Tratamentos						PROBABILIDADES			
	SEM ÁCIDO BUTÍRICO		COM ÁCIDO BUTÍRICO		Antibiótico	CV (%)	Lático	Butírico	Interação	Antibiótico
	Sem Lático	Com Lático	Sem Lático	Com Lático						
Fase Inicial (1 a 21 dias)										
GP (g)	1056.72	1128.12	1172.22	1137.67	1161.51	3.81	0.0165	0.0001	0.0001	0.0980
CR (g)	1126.44	1188.60	1218.21	1210.65	1222.62	4.21	0.0675	0.0004	0.0217	0.3108
CA (g/g)	1.07	1.05	1.04	1.06	1.05	2.65	0.1079	0.2183	0.0176	0.2316
Mort (%)	1.43	1.79	1.07	0.36	0.71	162.90	0.7921	0.1935	0.4311	0.6483
Fase de Crescimento (21 a 35 dias)										
GP (g)	1065.54	1092.14	1074.50	1117.06	1104.32	4.38	0.0591	0.3431	0.6532	0.6336
CR (g)	2201.64	2366.70	2324.42	2374.40	2346.54	4.83	0.0001	0.0086	0.0188	0.7368
CA (g/g)	2.07	2.17	2.16	2.13	2.13	5.52	0.0584	0.0759	0.0003	0.6599
Mort (%)	2.53	1.11	2.52	1.79	1.45	109.45	0.1837	0.6762	0.6658	0.6982
Fase de Terminação (35 a 39 dias)										
GP (g)	228.72	248.00	256.32	263.28	257.00	23.64	0.4245	0.1956	0.7061	0.9517
CR (g)	715.68	745.16	747.72	753.28	739.40	6.83	0.2191	0.1605	0.3986	0.5609
CA (g/g)	3.13	3.01	2.92	2.86	2.88	16.36	0.5560	0.2785	0.6496	0.9273
Mort (%)	0.36	0.72	1.87	0.37	1.12	174.35	0.3317	0.3246	0.1157	0.8452
Total (0 a 39 dias)										
GP (g)	2364.96	2468.31	2540.85	2520.18	2522.91	3.81	0.1462	0.0003	0.0330	0.6812
CR (g)	4040.01	4300.53	4290.39	4338.36	4308.33	3.92	0.0046	0.0076	0.0433	0.9843
CA (g/g)	1.71	1.74	1.69	1.72	1.71	3.57	0.1633	0.3848	0.8802	0.6892
Mort (%)	4.29	3.57	5.36	2.50	3.21	83.79	0.1514	1.0000	0.3841	0.6739

GP : Ganho de Peso (g); CR: Consumo de Ração (g); CA: Conversão Alimentar (g/g); Mort: Mortalidade

CV : Coeficiente de variação (%)

4.1.1 Ganho de Peso (GP)

Para o parâmetro ganho médio de peso (GP), a interação entre os ácidos utilizados mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) na fase inicial e no período total, entretanto, não houve efeito aditivo, já que o valor de ganho médio de peso foi maior que o grupo tratado com ácido láctico (isoladamente) e menor que o tratado com ácido butírico na mesma condição, demonstrando a possibilidade que a associação dos ácidos diminui a potencialidade do ácido butírico para promover o crescimento ao ser utilizado isoladamente.

O ganho de peso médio da interação foi superior significativamente ao grupo controle ($p < 0,05$). Já o grupo tratado com antibiótico não mostrou diferença significativa.

Nas fases de crescimento e final não se detectou diferenças significativas entre os tratamentos estudados.

Estes resultados discordam dos encontrados por Vale et al. (2004), nos quais, na fase de 1 a 21 dias de idade, utilizando 0,5% de uma mistura de ácidos orgânicos (ácido fórmico e propiônico) nas rações, não foram observadas diferenças significativas no ganho de peso médio.

Resultados similares ao anteriormente mencionado no ganho de peso na fase inicial foram encontrados por Campos et al. (2004), os quais estudaram o uso do ácido fumárico nas rações de frangos de corte. Do mesmo modo, Maiorka et al. (2004) não detectou diferenças significativas no ganho de peso até os 21 dias de idade, ao usar uma mistura de ácidos orgânicos (fumárico, láctico, cítrico e ascórbico) na ração de frangos de corte, em relação ao grupo controle (ausência de ácidos).

No entanto, resultados similares ao presente estudo foram encontrados por Runho et al. (1995), em que, na fase de 1 a 21 dias de idade, o nível de 0,5% de ácido fumárico no

alimento, proporcionou um maior ganho de peso das aves. Garcia et al. (2000) observaram na fase de 1 a 21 dias de idade, que a adição de 0,1% de uma combinação de ácido orgânicos promoveu um ganho de peso das aves 2,1% superior.

A ausência de resposta nas fases de crescimento e final poder ser decorrente de fatores relacionados à dosagem do acidificante que estão relacionados à constante de dissociação responsável por identificar a capacidade acidificante (SCAPINELLO et al., 2001).

Já Campos et al. (2004) afirmam que as primeiras semanas de vida das aves são cruciais para o desenvolvimento do trato digestório e que qualquer alimento ou aditivo que seja adicionado à ração que leve à manutenção da integridade e ao desenvolvimento da mucosa intestinal proporcionará resultados mais satisfatórios.

4.1.2 Consumo de Ração (CR)

Para o parâmetro consumo de ração (CR), a interação entre os ácidos utilizados mostrou efeito significativo ($p < 0.05$) nas fases, inicial, de crescimento e no período total, porém o efeito da interação entre os ácidos teve comportamentos diferentes de acordo com a fase estudada.

Na fase inicial e no período total a interação não teve efeito aditivo, já que o valor de consumo de ração foi superior ao do grupo tratado com ácido láctico e inferior ao grupo tratado com ácido butírico isoladamente. Já na fase de crescimento, a interação mostrou um efeito do tipo aditivo, sendo o valor de consumo de ração superior aos grupos tratados com os ácidos isoladamente.

Nas fases inicial, de crescimento e no período total, a interação dos ácidos foi superior significativamente ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle, mas não mostrou diferenças significativas em relação ao grupo tratado com antibiótico. Na fase final o consumo de ração não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos.

Os resultados do presente estudo, não coincidem com os encontrados por Gustin et al. (2006), que ao testarem o uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e antibióticos não observaram diferenças significativas entre os tratamentos, no consumo de ração.

Já Runho et al. (1997), ao estudarem o desempenho de aves adicionando um ácido orgânico na ração, observaram uma depressão no consumo dos animais tratados com ácido fumárico. Da mesma forma, Cave (1982), relata que tanto o ácido propiônico como o acético reduziram o consumo de ração em pintos.

Kirchgessner e Roth (1992) relataram que o aumento da energia metabolizável das rações explicaria essa depressão no consumo dos animais estudados.

Por outro lado, resultados similares ao presente estudo foram obtidos por Skinner et al. (1991), que observaram um aumento significativo no consumo de ração para frangos recebendo ácidos orgânicos em suas dietas, em relação ao grupo isento de aditivos em frangos de corte.

Da mesma forma, Garrido et al. (2004) descreveram um aumento no consumo de ração em pintinhos até os 21 dias de idade, tratados com dietas acidificadas com uma mistura de ácidos orgânicos, justificado segundo os autores, por um melhor equilíbrio da flora intestinal produzida pelo efeito inibidor de patógenos dos ácidos orgânicos.

Além disso, poderia ser uma explicação dos diferentes comportamentos alimentares o fato que os diferentes tipos e dosagem de ácidos orgânicos talvez pudessem influenciar de forma positiva ou negativa na palatabilidade da ração.

4.1.3 Conversão Alimentar (CA)

Para o parâmetro de conversão alimentar (CA), a interação entre os ácidos mostrou efeito significativo ($p < 0,05$) nas fases, inicial e de crescimento.

Na fase inicial, o efeito da interação não foi aditivo, já que a conversão para os grupos tratados com os ácidos isoladamente foi melhor (menor) em relação ao grupo tratado com os ácidos em conjunto, demonstrando uma subtração no efeito entre o ácido láctico e butírico, para esse parâmetro.

Em relação ao grupo controle, a interação foi significativamente superior, com melhor conversão alimentar. Já, o grupo tratado com o antibiótico não mostrou diferença significativa.

Na fase de crescimento, a interação mostrou um efeito aditivo, com uma melhor conversão alimentar em relação aos grupos tratados com ácidos isoladamente.

Já o grupo controle, a conversão alimentar mostrou-se numericamente melhor ao grupo da interação dos ácidos. Já em relação ao grupo tratado com antibiótico, numericamente não houve diferenças.

Resultados observados por Maiorka et al. (2004), que utilizaram uma mistura de ácidos orgânicos, apresentaram uma conversão alimentar sem diferença significativa entre os tratamentos, o que discorda dos resultados encontrados neste estudo.

Garcia et al. (2000) estudando a ação e desempenho de dois ácidos orgânicos na ração de frangos de corte, também não encontraram diferenças significativas entre os grupos tratados.

Patten e Waldroup (1988) estudando os efeitos do ácido fumárico na ração de frangos de corte na fase inicial de 1 a 21 dias de idade não observaram diferenças significativas na conversão alimentar em comparação ao grupo controle.

Resultados similares ao presente estudo foram descritos por Runho et al. (1997), que ao estudarem o efeito de um ácido orgânico na dieta de frangos de corte em contraste ao uso de antibiótico como promotor de crescimento, verificaram que o grupo controle isento de antibiótico e ácido orgânico apresentou a pior conversão alimentar na fase de crescimento.

Da mesma forma, Rahmanli e Sperrs (2005), investigando os efeitos do ácido cítrico como promotor de crescimento na dieta de frangos de corte, observaram melhor conversão alimentar quando comparado ao grupo isento de aditivos em todas as fases da ave.

No presente estudo, os diferentes tipos de efeitos observados na interação entre os ácidos, láctico e butírico indicam a necessidade de diferentes condições para expressar seu máximo potencial, já que como observamos em muito casos eles não se potencializam a ponto de ocorrer uma diminuição de um, frente a presença do outro. Os mecanismos das diferentes reações bioquímicas ainda não são totalmente elucidados, e requerem novos estudos para se obter maior clareza de tais fenômenos.

As respostas de desempenho (ganho de peso, consumo de ração e conversão) observadas no presente estudo, no qual se observou um efeito significativo da interação ($p < 0,05$), foram obtidos valores superiores ao compará-los com os grupos isentos de aditivo (grupo controle).

Da mesma forma, Bellaver et al. (2004), utilizando uma mistura de ácidos orgânicos contendo 80% de ácido láctico, 10% de ácido acético e 10% de ácido orto- fosfórico e desafiando o lote de aves com uma inoculação oral de oocistos de *Eimerias*, obtiveram melhor desempenho zootécnico das aves em relação ao grupo controle (ausência de aditivos) e semelhante à dieta com antibióticos usados como promotores de crescimento.

Por outro lado, Denli et al. (2003), ao avaliarem o desempenho de frangos de corte, suplementados com uma mistura de ácidos orgânicos e um antibiótico (Flavomicina) separadamente na ração, sem a aplicação de um desafio, observaram resultados similares entre os grupos tratados, mas superiores ao grupo isento de aditivos (controle).

A variedade dos diferentes resultados observados nos trabalhos citados anteriormente poderia ser atribuída às diferentes condições de manejo e qualidades de rações e ao baixo desafio no campo realizado em cada um deles. Ademais os ácidos orgânicos estudados foram diferentes, em concentrações e dosagem desiguais entre um estudo e outro, incluindo as condições e apresentações totalmente diferentes. Todos esses fatores de certa forma justificam a ampla margem de variação nos resultados estudados.

Somado a isso, Ricke (2003) sugere a possibilidade que se desenvolva algum tipo de tolerância aos ácidos orgânicos por parte de microrganismos patógenos existentes na flora intestinal quando se utilizam subdoses de ácidos orgânicos, proporcionando aos microrganismos a oportunidade de induzir resistência ao estresse gerado pela ação dos ácidos.

4.1.4 Mortalidade (Mort)

Para o parâmetro de mortalidade não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$), entre os grupos tratados em nenhuma fase do estudo.

Estes resultados estão em acordo com os encontrados por Garcia et al. (2000), que estudaram o efeito dos ácidos fórmico e propiônico como promotores de crescimento, e não encontraram diferenças estatísticas entre os grupos tratados com antibiótico, controle (ausência de aditivos) e os ácidos já mencionados.

Da mesma forma, Garrido et al. (2004), ao estudarem o equilíbrio da flora intestinal de frangos de corte pela acidificação da ração, e comparando-as com grupos tratados com antibiótico e grupo controle sem a presença de algum promotor de crescimento não verificaram diferenças significativas entre os grupos tratados. Resultados similares foram observados por Cave (1984), investigando os efeitos dos ácidos láctico e propiônico na ração de pintinhos até os 21 dias de idade.

Todos os estudos apontados apresentam a mesma tendência, que poderia ser explicada pela falta de desafios controlados que permitam verificar algum tipo de efeito por parte dos ácidos orgânicos. A uniformidade das taxas de mortalidade nos estudos citados poderia estar relacionada ao fato de que em geral os experimentos são realizados em ótimas condições sanitárias e de manejo.

Contrariamente, Bellaver et al. (2005), acidificando dietas de frangos de corte, obtiveram média da mortalidade de 4,72% , maior do que a convencional de 2%, o que seria explicado parcialmente pela imposição de um desafio controlado realizado aos 14 dias de idade quando oocistos de *Eimerias* foram inoculados oralmente.

Entretanto, Franco et al. (2006), analisando os efeitos de diferentes promotores de crescimento, entre eles um ácido orgânico, não verificaram diferenças significativas, porém a média da mortalidade foi acima dos 4%, sem a aplicação de nenhum desafio controlado.

Apesar da ausência de resposta na mortalidade das aves tratadas, nos demais parâmetros de desempenho foram observados alguns efeitos positivos dos ácidos orgânicos. Apesar de não terem sido demonstradas razões conclusivas para a melhora no desempenho produtivo de frangos de corte, autores como Waldroup e Patten (1988), sugerem que as possíveis formas de ação dos ácidos orgânicos são as alterações no pH intestinal, ativação das enzimas proteolíticas, melhora na produção de sais biliares e modificação da microflora intestinal, resultando em maior e melhor absorção de nutrientes.

Bellaver e Scheuermann (2004), também citam como ação dos ácidos orgânicos como responsáveis por um melhor desempenho dos frangos, a sua capacidade aniônica tamponante com cátions das dietas (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn), aumentando a digestibilidade, a retenção de elementos minerais e a utilização da energia do ácido no metabolismo da ave.

4.2 IMUNIDADE HUMORAL

Na tabela 7 estão apresentadas as médias dos resultados obtidos na análise sorológica através do Teste de Elisa para a detecção de Títulos de Anticorpos contra a Doença de Newcastle.

No tempo zero, aos 14 dias de idade, antes da vacinação das aves, as médias dos títulos de anticorpos analisados são considerados anticorpos passivos (maternos). Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os grupos estudados, resposta totalmente esperada apesar dos 14 dias de tratamento diferencial, devido à ausência de um desafio imunológico que estimulasse a produção de anticorpos.

No tempo 1, aos 21 dias de idade observa-se numericamente o aumento substancial nas médias de títulos de anticorpos em todos os grupos estudados, fenômeno devido ao estímulo imunológico realizado através da vacinação (Newcastle) no 14º dia de idade das aves. Entretanto não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos estudados, apesar do maior valor observado nos grupos tratados com ácido butírico, associação de ácidos butírico e láctico e antibióticos.

Para a última coleta (Tempo 2), aos 35 dias de idade, há permanência do aumento considerável na média do título de anticorpos em todos os grupos estudados. No entanto neste

caso, a interação entre os ácidos estudados mostrou ser superior significativamente ($p < 0.05$) apresentando-se substancialmente maior em comparação aos outros grupos, ocorrendo uma interação do tipo aditivo entre os ácidos utilizados. No caso do grupo tratado com ácido butírico isoladamente, observa-se um valor numericamente superior aos demais grupos, mas com a adição do ácido láctico ocorre uma potenciação do efeito, ocorrendo um sinergismo entre os ácidos.

Na figura 1 está demonstrando o comportamento da imunidade humoral dos diferentes tratamentos anteriormente mencionados.

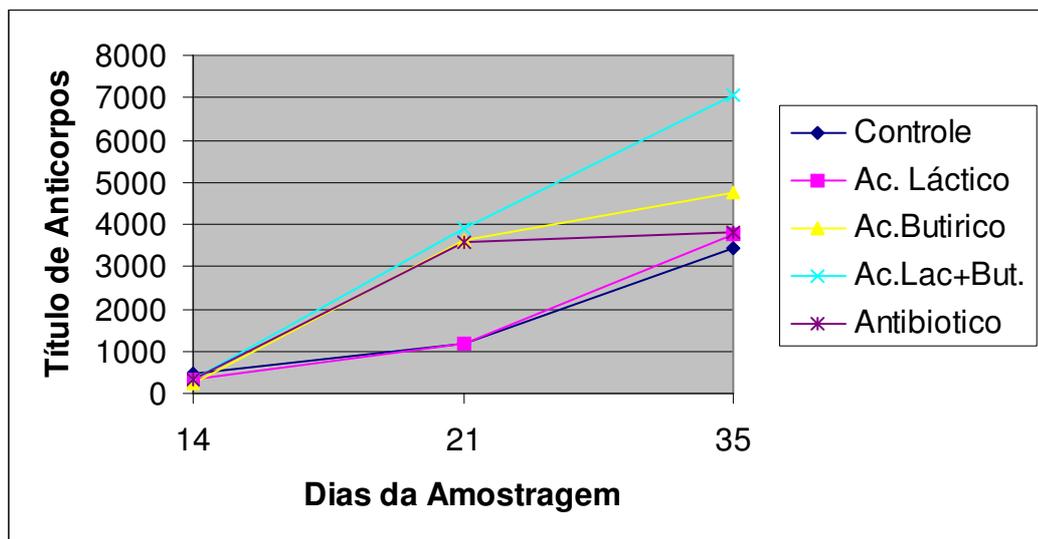


Figura 1. Comportamento dos Títulos de Anticorpos dos diferentes grupos tratados nos diferentes dias de amostragem

Resultados similares aos do presente estudo foram observados por Okamoto et al. (2006), que ao estudarem os índices de imunoglobulinas A no intestino de frangos de corte tratados com *Lactobacillus spp.* e posteriormente desafiados com *Salmonella enteritidis* no 3° e 21° dia de vida, verificaram os maiores índices de IgA no terceiro momento de coleta (dia 28) em comparação aos grupos controle e sem desafio imunológico.

De igual forma, Huang et al. (2004) observaram títulos de anticorpos significativamente superior (contra a Doença de Marek) tratando as aves com duas cepas de *Lactobacillus*.

Do mesmo modo, Yasui et al. (1999) estudando duas bactérias produtoras de ácido láctico detectou melhorias significativas na resposta imune humoral. Sugerindo como hipótese que os ácidos produzidos pelas bactérias modulariam a produção de anticorpos e prevenção de infecções nas aves tratadas.

Já, Rahmani e Speers (2005), estudando o efeito de um aditivo natural e um ácido orgânico (ácido cítrico) na imunidade humoral de frangos de corte criados até os 42 dias de idade, verificaram que a produção de imunoglobulinas do grupo tratado com ácido cítrico foi significativamente superior ao grupo controle (ausência de aditivos).

Friedman e Sklan (1995) examinaram o efeito da dieta contendo ácidos graxos poliinsaturados, na produção de anticorpos e tecido linfóide em frangos de corte, as aves foram imunizadas contra soro bovino aos 14 dias de idade, e amostras de sangue foram tomadas a cada 5 dias durante o período de 30 dias. Os resultados indicaram uma maior produção de anticorpos no grupo tratado com óleo adicional na dieta, além da maior velocidade de resposta ao desafio imunológico. Além disso, através do acompanhamento da composição de ácidos graxos no soro e tecido linfóide das aves, verificou-se um aumento significativo de ácido linoléico em relação a outros ácidos graxos poliinsaturados, paralelamente ao fenômeno relacionado ao título de anticorpos. Apesar dos ácidos graxos poliinsaturados serem diferentes estruturalmente aos ácidos orgânicos de cadeia curta, poderia haver um mecanismo similar em seu modo de ação na modulação da resposta imune.

A influência dos ácidos orgânicos sobre a modulação da imunidade das aves poderia ser explicada por dois fenômenos citados, por Klasing (1998). Primeiramente, para que haja proliferação celular e produção de moléculas fundamentais para a resposta imune são

necessários substratos de nutrientes. Em segundo lugar, ao fato de que alguns nutrientes, como já se sabe, vitaminas e ácidos graxos, têm uma ação regulatória direta sobre os leucócitos.

Adicionalmente, os ácidos orgânicos possuem propriedades físico – químicas na dieta que podem alterar a população de microrganismos presentes no trato gastrintestinal, dificultando ou facilitando a adesão de patógenos ao epitélio. Bassan et al. (2006) ao estudarem a população microbiana em frangos de corte tratados com um ácido orgânico na ração confirmaram este mecanismo de defesa. A análise bacteriológica detectou uma redução significativa para *Salmonella enteritidis* ao fazer a comparação com o grupo sem aditivos.

Van Immerseel et al. (2004), ao tratarem com ácido butírico, prévia a inoculação de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte, observaram uma diminuição significativa na invasão bacteriana nas células epiteliais do ceco.

No entanto, Gunal et al. (2006), verificando a microflora intestinal de frangos tratados com ácidos orgânicos, não observaram diferenças significativas ao grupo sem promotores de crescimento.

Tabela 7 - Médias dos títulos de anticorpos contra o vírus da Doença de Newcastle (Teste de Elisa) em frangos de corte em três idades

Tempo	Tratamentos				Antibiótico	CV (%)	PROBABILIDADES			
	SEM ÁCIDO BUTÍRICO		COM ÁCIDO BUTÍRICO				Lático	Butírico	Interação	Antibiótico
	Sem Lático	Com Lático	Sem Lático	Com Lático						
0 (14 dias)	491.93	329.43	234.07	315.07	336.07	74.64	0.6982	0.3248	0.4348	0.6022
1(21dias)	1169.00	1294.50	3608.85	3891.64	3583.79	101.23	0.9660	0.0657	0.8982	0.0988
2 (35 dias)	3430.50	3784.93	4730.35	7038.86	3810.50	69.75	0.2184	0.0045	0.0323	0.7029

CV: Coeficiente de variação (%)

4.3 MORFOMETRIA INTESTINAL

Na tabela 8 são apresentados os resultados da morfometria intestinal obtidos através das análises histológicas realizadas nas amostras de intestino, valores médios da altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta.

De acordo com as análises estatísticas realizadas, não se encontrou efeito para nenhum segmento intestinal nas variáveis, Altura de Vilo e Relação Vilo:Cripta entre os diferentes grupos estudados. O coeficiente de variação obtido nas análises estatísticas foi relativamente baixo, o que nos revela uma baixa variação nas amostras estudadas.

Já no caso da variável profundidade de cripta, houve diferença significativa ($p < 0,05$), no segmento intestinal do duodeno, no grupo tratado com antibiótico, expressando uma maior profundidade de cripta em comparação aos demais grupos estudados. No segmento intestinal do Íleo também houve diferença significativa ($p < 0,05$), na interação dos ácidos mostrando um efeito do tipo aditivo com relação ao uso dos ácidos isoladamente.

Da mesma forma ao presente estudo, resultados inconsistentes foram encontrados por Gulsen et al. (2002); Michelan et al. (2002); Maiorka et al. (2004); empregando diferentes ácidos orgânicos na dieta de frangos de corte.

Além disso, Chaveerach et al. (2004) não observaram diferenças significativas nas lesões epiteliais do intestino delgado entre os grupos estudados, administrando um ácido orgânico na água junto a uma inoculação oral de *Campylobacter sp.* de frangos de corte.

Por outro lado, Gutiérrez, Garcia e Carabaño (2000) observaram que a adição de antibiótico nas dietas de coelhos aumentou a altura do vilo e a profundidade de criptas do jejuno. A ação positiva dos antibióticos deve-se a sua influência sobre a flora intestinal, regulando o

equilíbrio microbiano, controlando as infecções subclínicas e potencializando a absorção de nutrientes.

Gunal et al. (2006), investigando os efeitos de um ácido orgânico, um probiótico e um antibiótico incluídos na ração de frangos de corte, sobre a morfologia intestinal aos 21 e 42 dias de idade, não encontraram diferenças entre os grupos tratados com dieta basal (grupo controle), ácido orgânico e antibiótico.

A ausência e a inconsistência de respostas na morfometria intestinal por parte dos ácidos orgânicos nos estudos citados e em parte no presente trabalho poderia atribuir-se a falta de desafios sanitários que estimulassem a proliferação do epitélio intestinal, já que em termos gerais os estudos são conduzidos sob condições ótimas de higiene e manejo.

Okamoto et al. (2006), realizando um desafio com a inoculação oral de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte, observaram que somente os grupos tratados com *Lactobacillus spp.* apresentaram vilosidades médias significativamente maiores que os demais grupos.

Resultados similares foram encontrados por Jaenisch et al. (2006), medindo a altura das vilosidades do jejuno em grupos tratados com dietas acidificadas. Dobrosgosz et al. (1991) também observaram aumento tanto no comprimento do vilão como na profundidade de cripta no intestino delgado de frangos de corte, em que as dietas foram suplementadas com *Lactobacillus reuteri*.

Apesar destes estudos citados não utilizarem ácidos orgânicos diretamente na ração se presume que parte do seu efeito sobre o epitélio intestinal é realizado pelos ácidos liberados pelos microrganismos utilizados em questão.

Por outro lado, a não uniformidade dos resultados positivos nos diferentes segmentos investigados, no presente estudo e na literatura compulsada, poderia dever-se a diversos fatores,

como concentração, dosagem e formas de ação de cada ácido, velocidade de transito do alimento, flora microbiana de cada segmento entre outros.

O mecanismo de ação dos ácidos orgânicos sobre o epitélio intestinal poderia ser atribuído a menor flora de bactérias patôgenicas presentes, devido a sua capacidade de reduzir o pH no meio intestinal, dificultando a adesão das bactérias ao epitélio, gerando epitélio com menos danos por multiplicação bacteriana.

Blikslager e Roberts (1997) afirmaram que os ácidos graxos de cadeia curta atuam como metabólitos primários dos colonócitos, e talvez essa seja a explicação para que ratos tratados com ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) apresentem um aumento do conteúdo de DNA na mucosa do colón.

Agentes tróficos, como a presença de nutrientes no lúmen intestinal, estimulam o desenvolvimento da mucosa intestinal, ou seja, estimulam o processo mitótico e como consequência, aumentam o número de células e tamanho de vilos (MAIORKA e LAURENTIZ, 2002).

Esta última afirmação justificaria a resposta obtida no presente estudo, já que o grupo tratado com os ácidos associados apresentou um maior consumo de ração no período total acompanhado de uma maior profundidade de cripta do íleo.

Tabela 8 - Médias da morfometria intestinal de frangos de corte dos diferentes tratamentos.

Variáveis	Tratamentos						PROBABILIDADES			
	SEM ÁCIDO BUTÍRICO		COM ÁCIDO BUTÍRICO		Antibiótico	CV (%)	Lático	Butírico	Interação	Antibiótico
	Sem Lático	Com Lático	Sem Lático	Com Lático						
Altura do vilo (mm)										
Duodeno	454.32	460.11	437.51	451.81	476.29	13.17	0.6733	0.5986	0.8582	0.3391
Jejuno	439.46	402.80	408.62	392.84	434.79	16.79	0.3407	0.4572	0.7027	0.2945
Íleo	410.17	437.25	427.91	466.13	446.82	14.60	0.1938	0.3502	0.8221	0.9150
Profundidade da cripta (mm)										
Duodeno	88.48	81.44	86.08	82.13	103.86	17.76	0.3147	0.8743	0.7755	0.0023
Jejuno	98.74	74.18	76.51	76.82	91.47	23.94	0.0933	0.1716	0.0855	0.0624
Íleo	95.71	71.99	81.42	89.31	90.50	16.56	0.0962	0.7444	0.0018	0.0813
Relação vilo: Cripta (mm)										
Duodeno	5.31	6.02	5.09	5.60	4.71	24.36	0.2206	0.5191	0.8436	0.1422
Jejuno	4.62	5.64	5.60	5.28	5.11	29.37	0.8194	0.3052	0.4077	0.1907
Íleo	4.40	6.17	5.35	5.39	5.01	24.10	0.0551	0.8414	0.0656	0.2382

CV: Coeficiente de variação (%)

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e sob as condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que:

1. Recomenda-se o uso do ácido butírico isoladamente durante a fase inicial.
2. Na fase de crescimento recomenda-se a utilização dos ácidos lático e butírico associados como promotor de crescimento.
3. A associação dos ácidos, lático e butírico é uma ferramenta interessante a ser utilizado como modulador da resposta imunológica, para frangos de corte.
4. Mais estudos são necessários com a finalidade de obter informações mais conclusivas a respeito dos efeitos dos ácidos orgânicos, tanto no desempenho, como na morfologia intestinal e na imunidade humoral das aves.

REFERÊNCIAS

- AMOS, W. M. G. **Inmunologia básica**. Zaragoza: Editorial Acriba S.A, 1981. cap. 7, p. 54-64.
- BASSAN, J. D. L.; FLORES, M. L.; ANTONIAZZI, T.; BIANCHI, E.; KUTTEL, J. e FELIN, M. Avaliação de dois ácidos orgânicos incorporados em um “carrier” mineral no controle da infecção por *Salmonella enteritidis* em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, v.8, n.1, p. 203, 2006.
- BAYER, R. C.; CHAWAN, C. B.; BIRD, F. H. e MUSGRAVE, S. D. Characteristic of the absorptive surface of the small intestine of the chicken from 1 day to 14 weeks of age. **Poultry Science**, v. 54, p. 155-169, 1975.
- BEDFORD, M. Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: implications and strategies to minimise subsequent problems. **World’s Poultry Science Journal**, v. 56, p. 347-365, 2000.
- BELLAVER, C.; AVILA, V. S.; COLDEBELLA, A.; COSTA, C. A. F.; JAENISH, F. R. F. e ARMILIATO, N. Acidificação de dietas para frangos de corte com uma mistura de ácidos orgânicos de cadeia curta. **42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia (SBZ)**, que acontece de 25 a 28 de julho, em Goiânia/GO 2005.
- BELLAVER, C. e SCHEUERMANN, G. Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte. In: **CONFERENCIA AVISUI 2004**. Florianópolis SC. 2004, p. 1-16.
- BLIKSLARGER, A.T. e ROBERTS, C. Mechanism of intestinal mucosal repair. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 211, n. 9, p. 1437-1441, 1997.
- BOLELI, I. C.; MAIORKA, A. e MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 2002. cap. 5, p. 75-95.
- CAMPOS, M. P. A.; RABELLO, C. B. V.; SAKOMURA, N. K.; LONGO, F. A.; KUANA, S. e GUT, F. Utilização do ácido fumárico em dietas de frango de corte com baixa energia metabolizável. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 35-39, 2004.
- CAVE, N. A. G. Effect of dietary propionic and lactic acid in feed intake by chick. **Poultry Science**, v. 63, p. 131-134, 1984.

CAVE, N. A. G. Effect of dietary short and medium-chain fatty acids on feed intake by chicks. **Poultry Science**, v. 61, p. 1147-1153, 1982.

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D.A.; LIPMAN, L.J.A. e VAN KNAPENT, F. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, Volatile Fatty Acid Production, Gut Microflora and histological cell changes. **Poultry Science**, v. 83, p.330-334, 2004.

DENLI, M.; OKAN, F. e CELIK, K. Effect of dietary probiotic, organic acid and, antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 89-91, 2003.

DOBROGOSZ, W. J.; BLACK, B. L. e CASAS, I. A. Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. **Poultry Science**, n. 70, p. 158, 1991.

FRANCO, S. Z. C.; NEVES, A. C. R. S.; BORGES, M. S.; GUSTIN, P. C.; FREITAS, A. G. e SILVA, P. L. Efeitos de promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte no verão. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, v. 8, p. 139, 2006. Suplemento 8.

FRIEDMAN, A. e SKLAN, D. Effect of dietary acids on antibody production and fatty acid composition of lymphoid organs in broiler chick. **Poultry Science**, v. 74, p. 1463-1469, 1995.

GALFI, P. e BOKORI, J. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium *n*-butyrate. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 38, n. 1-2, p. 3-17, 1990.

GALFI, P.; NEOGRADY, S.; VERESEGYHAZY, T. e KUTAS, F. Demonstration of keratinizing effect of *n*- butyrate on day-old chicken crop epithelium. **Zentralblatt fur Veterinar Medizin Rehne A.**, v. 32, p. 146-150. 1985.

GARCIA, R. G.; ARIKI, J.; MORAES, V. M. B.; KRONKA, S. N.; BORGES, S. A, MURATA, L. S. e CAMPOS, V. A. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos e promotor de crescimento em rações de frango de corte. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**. v. 2, n. 2, p. 149-154, 2000.

GARRIDO, M. N.; SKJERVHEIM, M.; OPPEGAARD, H. e SORUM, H. Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.9, p. 5208-5213, 2004.

GEYRA, A.; UNI, Z. e SKALN D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the poshatch chick. **Poultry Science**, v. 80, p. 776-782, 2201.

GLICK, B. Embryogenesis of bursa of Fabricius: stem cell, microenvironment, and receptor-paracrine pathways. **Poultry Science**, v. 74, p. 419-426, 1995.

GOLUB, E. S. e GREEN, D. R. **Immunology a synthesis**. 2nd ed. Sunderland: Sinaner associates, Inc Publishers, 1991. cap. 1, p. 8.

GONG, J.; FORSTER, R. J.; HAI YU; CHAMBERS, J. R.; WHEATCROFT, R.; SABOUR, P. M. e CHEN, S. Molecular analysis of bacterial populations in the ileum of broiler chicken and comparison with bacteria in the cecum. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 41, p. 171-179, 2002.

GULSEN, N.; COSKUN, B.; UMUCALILAR, H.D.; INAL, F. e BOYDAK, M. Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. **Archives Animal Nutrition**, v.56, p. 131-139, 2002.

GUNAL, M.; YAYLI, G.; KAYA, O.; KARAHAN, N. e SULAK, O. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 149-155, 2006.

GUSTIN, P. C.; FRANCO, S. Z. C.; NEVES, A. C. R. S.; BORGES, M. S.; FREITAS, A. G. e SILVA, P. L. Efeitos de promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte no inverno. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, v. 8, p. 138, 2006. Suplemento 8.

GUTIERREZ, I.; GARCIA, P. e CARABAÑO, R. Effect of supplementation with animal plasma and antibiotics on jejunal morphology of early-weaned rabbits. In: **WORLD RABBITS CONGRESS**, 2000, Valencia. v.7, p. 263-267.

HUANG, M.K.; CHOI, Y.J.; HOUDE, R.; LEE, J.W.; LEE, B. e ZHAO, X. Effects of Lactobacilli and an Acidophilic Fungus on the Production Performance and Immune Responses in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v.83, p.788-795, 2004.

ITO, N. M. K.; MIJAYI, C. I.; LIMA, E. A. e OKABAYASKI, S. **Produção de frangos de corte**. Campinas, SP.: FACTA, Fundação Apinco de Ciências e Tecnologia Avícolas 2004. cap. 13, p.207-215.

JAENISCH, R. F. R.; COLDEBELLA, A.; BELLAVAR, C. e AVILA, V. S. Estudo morfométrico das vilosidades e criptas intestinais de frangos de corte submetidos a ração acidificada. **42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia (SBZ)**, que acontece de 25 a 28 de julho, em Goiânia/GO 2005.

JAY, J. M. 1997. **Modern food microbiology**. 5th ed. New York: Chapman and Hall, 1997. p.87-92.

JEURISSEN, S. H. M.; VERVELDE, L. e JANSE, E. M. Structure and function of lymphoid tissues of the chicken. **Poultry Science Review**, v. 5, p. 183-207, 1994.

KIEN, L. K.; CHANG, J. C. e COOPER, J. R. Butyric acid is synthesized by piglets. **American Society for Nutritional Sciences**. v. 3, p. 234-237, 2000.

KIRCHGESSNER, M. e ROTH, F. X. Fumaric acid as feed additive in pig nutrition. **Pig News and Information**, v. 3, p. 259-264, 1992.

KLASING, K. C. Nutricional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v. 77, p. 1119-1125, 1998.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recente avanços. **Palestra otorgada a Conferência Apinco 2005 de Ciências e Tecnologia. Anais –V.1. P. 21-33**. Santos 04 ao 06 de maio de 2005.

LEE, A. e GEMMELL, E. Changes in the mouse intestinal microflora during weaning: role of volatile fatty acids. **American Society for Microbiology**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 1972.

LEHNINGER, A. L. **Biochemistry**. 2. ed. New York: Worth Publishers, 1975. p.1104.

LESSON, S. e SUMMERS, J. D. **Broiler breeder production**. Guelph, Ontario: University Books, 2000. p. 68, 91.

LESSON, S. e SUMMERS, J. D. **Commercial poultry nutrition**. 2nd ed. Guelph, Ontario: University Books, 1997. p. 4, 5.

MAIORKA, A. e LAURENTIZ, A. C.; Efeito do nível de energia e ácidos orgânicos em dietas iniciais de frangos de corte. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2002, Recife/Pe. **Anais...** Recife: U.F. Pernambuco, 2002. p.39.

MAIORKA, A.; SANTIN, A. M. E.; BORGES, S. A.; OPALINSKI, M. e SILVA, A. V. F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MATHEW, A. G.; JONES, T. e FRANKLIN, M. A. Effect of creep feeding on selected microflora and short-chain fatty acids in the ileum of weanling pigs. **Journal Animal Sciences**, v. 72, p. 3163-3168, 1994.

MICHELAN, A. C.; SCAPINELLO, C.; NATALI, M. R. M.; FURLAN, A. C.; SAKAGUTI, E. S.; FARIA, H. G. e SANTOLIN, M. L. R.; HERNANDES, A. B. Utilização de probiótico, ácido orgânico e antibiótico em dietas para coelhos em crescimento: ensaio de digestibilidade, avaliação da morfometria intestinal e desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2227-2237, 2002.

MORAN, E. T. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through prenatal development. **Journal Nutrition**, v.115, n.8, p.665-664, 1985.

MORENG, R. E. e AVENS, J. S. **Ciências e produção de aves**. Barcelona: Roca Editorial. 1990. p. 186.

MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 375.

MURRAY, R. H.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A. e RODWELL, V. W. **Harper's biochemistry**. 22. ed. New York: Worth Publishers, 1990. p. 720.

NOY, Y. e SKLAN D. Digestion and absorption in the young chick. **Poultry Science**, v. 74, p. 366-373. 1995.

OKAMOTO, A. S.; ANDREATTI FILHO, R. L.; LIMA, E. T. e NOUJAIM, J. C. Morfometria e detecção de imunoglobulina A (IgA) da mucosa intestinal de aves tratadas com *Lactobacillus spp.* e desafiadas com *Salmonella enteritidis*. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, v. 8, p. 191, 2006. Suplemento 8.

PATTEN, J. D. e WALDROUP, P. W. Use of organic acids in broiler diets. **Poultry Science**, v. 67, p. 1178-1182, 1988.

PENZ, A. M.; SILVA, A. B. e RODRIGUEZ, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLAS 1993**, Porto Alegre. **Anais...** Campinas: FACTA, 1993. p.111-119.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, J. D. e WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v. 51, p. 215-236, 1997.

QURESHI, M. A. Role of macrophages in avian health and diseases. **Poultry Science**, v. 77, n. 7, p. 978-982, 1998.

QURESHI, M. A.; HUSSAIN, I. e HEGGEN, C. L. Understanding immunology in disease development and control. **Poultry Science**, v. 77, n. 8, p. 1126-1129, 1998.

QURESHI, M.A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002**, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 2002. p. 243-254.

RAHMANI, H. R. e SPEER, W. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. **International Journal of Science**, v. 4, n. 9, p. 713-717, 2005.

RICKE, S. C. Perspective on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

RUNHO, R. C. **Uso do ácido orgânico (ácido fumárico) nas rações de frango de corte**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal, 1995. p.40-62 (Trabalho de graduação em Zootecnia).

RUNHO, R. C.; SAKOMURA, N. K, KUANA, S.; BANZATTO, D.; JUNQUEIRA, O. M. e STRINGHINI, J. H. Uso do ácido orgânico (Ácido Fumárico) nas rações de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 6, p. 1183-1191, 1997.

SANTOS, C. H. C. e SILVA, E. N. Métodos de diagnósticos laboratoriais microbiológicos e sorológicos. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 173-182.

SCAPINELLO, C.; FARIA, H. G.; FURLAN, A. C.; MICHELAN, A. C. e SANTOLIN, M. L. R. Efeito do uso de oligossacarídeo manose e acidificantes em rações com alto teor de amido, pra coelhos em crescimento. **Acta Scientiarium**, v. 23, n. 4, p. 1039-1043, 2001.

SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J.; MALLARINO, E. G. e ALBATSHAN, A. J. Developmental patterns of selected characteristic of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**, v. 70, p. 1200-1205, 1991.

SKINNER, J. T.; IZAT, A. L. e WALDROUP, P. W. Research note: fumaric acid enhances performance of broiler chickens. **Poultry science**, v. 70, p. 1444-1447, 1991.

SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World Poultry Science Journal**, v. 57, p. 415-428, 2001.

TURK, D. E. The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. **Poultry Science**, v. 61, p. 1225-1244, 1982.

TURNER, R. J. **Immunology: a comparative approach**. New York: John Wiley and Sons, 1994. p. 148-150.

UNI, Z.; PLATIN, R. e SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. **Comparative Physiology B.**, v. 168, p. 241-247, 1998.

VALE, M. M.; MENTEN, J. F. M.; MORAIS, S. C. D. e BRAINER, M. M. A. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler feeds. **Science Agricoly**, v. 61, n. 4, p. 371-375, 2004.

VAN DER WIELEN, P. W. J. J.; BIESTERVELD, S.; NOTERMANS, S.; HOFSTRA, H.; URLINGS, B. A. P. e VAN KNAPEN, F. Role of volatile fatty acids in development of the cecal

microflora in broiler chickens during growth. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2536-2540, 2000.

VAN IMMERSEEL, F.; DE BUCK, J.; DE SMET, I.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F. e DUCATELLE, R. Interactions of Butyric Acid and Acetic Acid Treated Salmonella with Chicken Primary Cecal Epithelial Cells In Vitro. **Avian Diseases**, v. 48, p. 384-391, 2004.

VAN LEEUWEN, P.; MOUWEN, J. M. V. M.; VAN DER KLIS, J. D. e VERSTEGEN, M. W. A. Morphology of the small intestinal mucosal surface of broilers in relation to age, diet formulation, small intestinal microflora and performance. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 41-48, 2004.

WILLIAMS, P. E. V. Poultry Production and Science: future directions in nutrition **World Poultry Science Journal**, v. 53, p. 33-48, 1997.

YASUI, H.; SHIDA, K.; MATSUZAKI, T. e YOKOKURA, T. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.76, p.383-389, 1999.