

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA**

**FABRÍCIO IMPERATORI**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE BUTIRATO DE SÓDIO  
MICROENCAPSULADO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E A  
REGENERAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE  
CORTE SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESAFIO  
EXPERIMENTAL**

**Marechal Cândido Rondon – PR**

**2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ZOOTECNIA**

**FABRÍCIO IMPERATORI**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE BUTIRATO DE SÓDIO  
MICROENCAPSULADO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E A  
REGENERAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE  
CORTE SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESAFIO  
EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia, área de concentração Produção e Nutrição Animal, linha de pesquisa em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção e Nutrição Animal.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jovanir Inês Müller Fernandes.

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PR**

**2018**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Imperatori, Fabrício

Efeito da adição de butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo e a regeneração da mucosa intestinal de frangos de corte submetidos a um desafio experimental / Fabrício Imperatori; orientador(a), Jovanir Inês Müller Fernandes, 2018.

83 f.

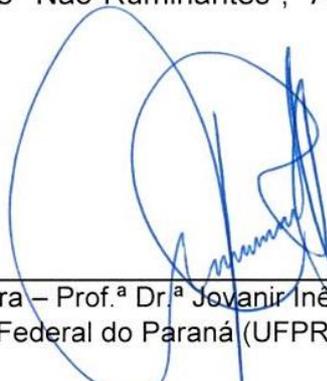
Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2018.

1. Frangos de corte. 2. Butirato de sódio microencapsulado. I. Fernandes, Jovanir Inês Müller. II. Título.

## FABRÍCIO IMPERATORI

### **Efeito da adição de butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo e a regeneração da mucosa intestinal em frangos de corte submetidos a um modelo de desafio experimental**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de *Mestre em Zootecnia*, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes”, APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:



Orientadora – Prof.ª Dr.ª Jovani Inês Muller Fernandes  
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – *Campus* de Palotina



Prof.ª Dr.ª Cinthia Eyng  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon



Prof. Dr. Antonio Carlos Pedroso  
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – *Campus* de Realeza

Marechal Cândido Rondon, 12 de março de 2018.

A Deus, por abençoar a minha vida.

Aos meus pais, Domingos Luiz Imperatori e Lovani Kunzler Imperatori, aos meus irmãos, Giovana Imperatori e Tiago Imperatori, à minha esposa, Tatiana Demichei Imperatori e às minhas filhas Isabella Demichei Imperatori e Juliana Demichei Imperatori, pois sempre demonstram apoio incondicional e são a minha fortaleza.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais e irmãos pelo apoio incondicional em toda minha vida.

À minha esposa Tatiana Demichei Imperatori pelo companheirismo, amor, paciência e apoio.

Às minhas filhas Isabella e Juliana Demichei Imperatori pelo mais puro amor.

À minha família por compreender e apoiar até mesmo nos momentos em que me fiz ausente por compromissos acadêmicos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao programa de Pós-graduação em Zootecnia pela oportunidade e conhecimentos.

À minha orientadora, Professora Doutora Jovanir Inês Müller Fernandes pela oportunidade, pela paciência, pelos ensinamentos e pela amizade.

Aos membros da banca de Qualificação (Professora Dr<sup>a</sup>. Regina Garcia e Professor Dr. Paulo Levi) e de Defesa deste trabalho (Professora Dr<sup>a</sup>. Cíntia Eyng e Professor Dr. Antônio Carlos Pedroso) pela oportunidade de aprendizado e troca de conhecimentos bem como pela atenção dedicada e orientações para enriquecer a dissertação.

À empresa Globoaves São Paulo Agroavícola LTDA, por permitir que realizasse o curso em paralelo às minhas atividades profissionais.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Unioeste pelos ensinamentos e pela amizade.

Ao colaborador da Unioeste, Sr. Paulo Henrique Morsh por sua dedicação, comprometimento e amizade.

A todos os alunos do Grupo PENA da Universidade Federal do Paraná - Campus Palotina, que auxiliaram de forma muito importante e competente no desenvolvimento do experimento.

Agradecimento especial a Adriele Braga de Cristo, Gustavo Fonseca, Joice Meri Schmidt e Rovaldo Scariot pela ajuda neste projeto e pela amizade.

Aos meus amigos, por compreenderem minha ausência durante esse período.

E a todos aqueles que de alguma maneira colaboraram para que este trabalho se tornasse uma realidade.

*“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”*

*Ayrton Senna da Silva*

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição dietética de butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo e a regeneração da mucosa intestinal de frangos de corte submetidos a um modelo de desafio experimental. Foram utilizados 1080 frangos de corte machos da linhagem Cobb Slow com 22 dias de idade. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 (dieta suplementada ou não com butirato de sódio x com ou sem desafio entérico) totalizando 4 tratamentos e 9 repetições de 30 aves por box. Aos 22 dias de idade, as aves dos grupos desafiados receberam inoculação no ingluvío de vacina para coccidiose contendo 20 vezes a dose recomendada pelo fabricante. Dois dias após (24º dia), as aves dos grupos desafiados receberam um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10<sup>9</sup> UFC/ave, aplicado diretamente no ingluvío. A avaliação do ganho de peso, peso médio, consumo de ração e conversão alimentar foi realizada semanalmente. Amostras da mucosa intestinal foram colhidas aos 28 e aos 42 dias de idade após necropsia de duas aves/repetição para avaliação da morfometria intestinal, permeabilidade e condição inflamatória da mucosa intestinal. Nessas mesmas idades foram coletadas amostras de excreta diretamente do ceco de 7 aves/tratamento para contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae. Para cálculo do rendimento de carcaça, cortes e deposição de gordura abdominal, aos 42 dias, foram abatidas 45 aves/tratamento. A análise estatística dos dados foi realizada pelo procedimento GLM e os dados não paramétricos foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis do software SAS. Os resultados mostram que as aves não inoculadas apresentaram menor ( $P < 0,05$ ) contagem de oocistos em relação às aves que foram inoculadas, independentemente do tipo de dieta, basal ou suplementadas com butirato de sódio. Aves desafiadas, independentemente da dieta, apresentaram pior ( $P < 0,05$ ) desempenho produtivo. A contagem de microrganismos da família Enterobacteriaceae e Clostridium Sulfito Redutores presentes no ceco de frangos de corte mostrou que não houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) da dieta ou do desafio entérico sobre a microbiota cecal dos animais avaliados. Os níveis séricos de FITC-d não foram alterados ( $P > 0,05$ ) pelo desafio ou dieta, demonstrando não haver diferença na permeabilidade intestinal. As aves que foram desafiadas apresentaram maior taxa de renovação celular por meio do aumento de profundidade e largura da cripta, redução da relação comprimento de vilo:profundidade de cripta do duodeno e menor área de absorção na mucosa do jejuno em relação às aves controle. No íleo, o

desdobramento da interação mostrou maior comprimento do vilo das aves que foram desafiadas e suplementadas com butirato de sódio em relação às desafiadas, mas que receberam apenas dieta basal. As aves que não foram desafiadas apresentaram maiores ( $P < 0,05$ ) peso de carcaça, de peito e de pernas, independentemente da dieta. A suplementação da dieta de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade com butirato de sódio microencapsulado submetidos ou não a um desafio entérico não influenciou o desempenho produtivo, o rendimento de carcaça e a saúde intestinal das aves.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos, coccidiose, morfometria intestinal, saúde intestinal

## ABSTRACT

### **EFFECT OF THE ADDITION OF MICROENCAPSULATED SODIUM BUTYRATE ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE AND REGENERATION OF INTESTINAL MUCOSA OF BROILERS SUBMITTED TO AN EXPERIMENTAL CHALLENGE MODEL**

The industrial poultry has as important characteristic to be in constant evolution process always seeking better zootechnical results and optimization of productive costs allied to the satisfaction of the final consumer. In recent years, one of the yearnings of the poultry chain linked to the consumer's search for safe and non-antibiotic food has been causing that new production techniques are developed. In this context, organic acids, besides presenting characteristics that put them as an alternative to the use of performance-enhancing antibiotics, are also food additives potentially capable of benefiting the development of production animals, either under normal breeding conditions or in situations of enteric challenge. This research aimed to evaluate the zootechnical, immunological aspects and the intestinal morphology of broilers supplemented with microencapsulated sodium butyrate. For the accomplishment of this study 1080 male chicks of the Cobb Slow line with 22 days of age were used. The birds were distributed in a completely randomized design in a 2 x 2 factorial scheme (supplemented diet or not with sodium butyrate vs. with or without enteric challenge), resulting in 4 treatments and 9 replicates of 30 birds per box. At 22 days of age, the birds in the challenged groups received inoculation in the crop of coccidiosis vaccine containing 20 times the dose recommended by the manufacturer. Two days after (24th day), the challenged group birds received an inoculum containing *Escherichia coli* (ATCC<sup>®</sup> 8739<sup>™</sup>) with a calculated concentration of 10<sup>9</sup> CFU/bird applied directly in the crop. The evaluation of the average weight, feed intake, weight gain and feed conversion was performed weekly. Samples of intestinal mucosa were collected at 28 and 42 days of age after necropsy of two birds / replicate (18 birds per treatment) for evaluation of intestinal morphometry, inflammatory mucosal condition, analysis of the proliferative capacity of intestinal cells and permeability of the intestinal mucosal. At these same ages samples of excreta were collected directly from the cecum of 7 birds/treatment for the count of Clostridium Sulfite Reducers and microorganisms of the family Enterobacteriaceae. For the calculus of the carcass yield, cuts and deposition of abdominal fat, at 42 days, 45 birds/treatment were

slaughtered. The statistical analysis of the data was performed using the GLM procedure and the non-parametric data were analyzed through the Kruskal-Wallis test of the SAS software. Non-inoculated birds showed lower ( $P < 0.05$ ) oocyst count than birds that were inoculated, regardless of the kind of diet, basal or supplemented with sodium butyrate. Birds challenged, regardless of diet, presented worse ( $P < 0.05$ ) productive performance. The microorganisms' count of the Enterobacteriaceae and Clostridium sulfite reductants present in the cecum of broiler chickens showed that there was no significant effect ( $P > 0.05$ ) of diet or enteric challenge on the microbiota of the cecum of the broiler chickens. Serum FITC-d levels were not altered ( $P > 0.05$ ) by the challenge or the diet, demonstrating no difference in intestinal permeability. The birds that were challenged had a higher rate of cell renewal by increasing the depth and width of the crypt, reducing the villi length ratio:depth of the duodenum crypt and smaller area of absorption in the mucosa of the jejunum in relation to the control birds. In the ileus, the interaction unfolded showed longer bird lengths that were challenged and supplemented with sodium butyrate compared to the challenged ones, but only received a basal diet. Analysis of the proliferative capacity of the intestinal cells and the intestinal morphometry are still being performed. The birds that were not challenged presented higher ( $P < 0.05$ ) carcass, breast and leg weight loss, regardless of diet. Dietary supplementation of broiler chickens from 22 to 42 days of age with sodium butyrate submitted or not to enteric challenge did not influence the productive performance, carcass yield and intestinal health of the birds.

**Key-words:** Coccidiosis, intestinal health, intestinal morphometry, organic acids

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias alimentados com dieta controle e não submetidos ao desafio experimental.....	65
Figura 02. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta controle e submetidos ao desafio experimental.....	66
Figura 03. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta suplementada com Butirato de Sódio e não submetidos ao desafio experimental.....	66
Figura 04. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta suplementada com Butirato de Sódio e submetidos ao desafio experimental.....	67
Figura 5. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores para fusão de vilos de frangos de corte aos 42 dias de idade de frangos – “Chance” de 63% da dieta a base de butirato de sódio apresentar os menores escores de fusão de vilos em comparação com a dieta basal.....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de crescimento (22 a 42 dias).....	49
Tabela 02. Contagem de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. nas excretas de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	54
Tabela 03. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 22 a 28 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	55
Tabela 04. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 28 a 35 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	56
Tabela 05. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 35 a 42 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	57
Tabela 06. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 22 a 42 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	57
Tabela 07. Contagem (UFC*) de microrganismos da família Enterobacteriaceae e Clostridium sulfito redutores presentes no ceco de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	59
Tabela 08. Níveis séricos de FITC-d* de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	60
Tabela 09. Morfometria da mucosa intestinal do duodeno de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	62
Tabela 10. Morfometria da mucosa intestinal do jejuno de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	63

Tabela 11. Morfometria da mucosa intestinal do íleo de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	64
Tabela 12. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores de lesões histopatológicas associadas ao índice de saúde intestinal de frangos de corte aos 28 dias de idade de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	68
Tabela 13. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores de lesões histopatológicas associadas ao índice de saúde intestinal de frangos de corte aos 42 dias de idade de frangos de corte suplementados ou não com butirato de sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	71
Tabela 14. Pesos absolutos de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	73
Tabela 15. Pesos relativos de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico.....	74

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ABPA** – Associação Brasileira de Proteína Animal

**AMD** – Antibiótico Melhorador de Desempenho

**ANOVA** – Análise de Variância (*Analysis of Variance*)

**CV** – Coeficiente de Variação

**DNA** – Ácido Desoxirribonucléico

**EUA** – Estados Unidos da América

**FAO** – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

**FITC-d** – Isotiocianato de Dextrano de Fluoresceína (*Fluorescein Isothiocyanate Dextran*)

**GLM** – General Linear Model

**IgA** – Imunoglobulina A

**ISI** – Índice de Saúde Intestinal

**ISO** – Organização Internacional de padronização (International Organization for Standardization)

**Kg** – Quilograma

**Kg/T** – Quilograma por tonelada de ração

**MAPA** – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**µg/mL** – Micrograma por mililitro

**mL** - Mililitro

**mm<sup>2</sup>** - Milímetro quadrado

**OECD** – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico

**OOPG/g** – Oocistos por grama de fezes

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**PIB** – Produto Interno Bruto

**pKa** – Constante de dissociação de ácido

**RCSBS** – Ração controle sem butirato de sódio

® - Marca registrada

**SCFA** – Ácido graxo de cadeia curta (*Short chain fatty acid*)

**TGI** – Trato gastrointestinal

**UFC/g** – Unidade Formadora de Colônias por grama de fezes

**UE** – União Europeia

**UI** – Unidades Internacionais

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>16</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Avicultura industrial brasileira.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2. Morfologia e estrutura geral da parede do intestino das aves.....</b>	<b>20</b>
2.2.1 Processos de reparação e regeneração da mucosa intestinal.....	21
2.2.2. Microbiota intestinal de frangos de corte.....	24
2.2.3. Coccidiose.....	27
<b>2.3. Uso de aditivos em rações.....</b>	<b>29</b>
2.3.1 Ácidos orgânicos.....	29
<b>3. Referências bibliográficas.....</b>	<b>35</b>
<b>4. Objetivo geral.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1. Objetivos específicos.....</b>	<b>41</b>
<b>5. CAPÍTULO 1 - EFEITO DA ADIÇÃO DE BUTIRATO DE SÓDIO MICROENCAPSULADO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E A REGENERAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESAFIO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>42</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>42</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1. Introdução.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2. Material e Métodos.....</b>	<b>48</b>
5.2.1. Avaliação do desempenho das aves.....	50
5.2.2. Morfometria intestinal e condição inflamatória da mucosa.....	50
5.2.3. Avaliação da permeabilidade da mucosa.....	51
5.2.4. Contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae presentes no ceco de frangos de corte.....	51

5.2.5. Rendimento de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal.....	52
5.2.6. Análise estatística.....	52
<b>5.3. Resultados e discussão.....</b>	<b>53</b>
<b>5.4. Conclusão.....</b>	<b>76</b>
<b>5.5. Referências.....</b>	<b>77</b>

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

A avicultura moderna busca extrair o máximo potencial dos animais, almejando obter menores custos produtivos aliados a alta qualidade de produtos destinados ao consumidor, que tem se mostrado cada vez mais exigente.

Indiferente da ótica em que a cadeia avícola é vista, o cenário é de expansão e, de acordo com projeções da OECD-FAO (2017), no ano de 2020, a carne de frango passará a ser a carne mais consumida a nível mundial superando o volume consumido de carne suína. Para que isso aconteça, se faz necessária a contínua busca por melhorias produtivas. Melhores processos de criação, manutenção de status sanitário livre de enfermidades críticas, melhorias de manejo e nutrição são pontos fundamentais para alavancar os resultados. Além disso, é necessária a compreensão das exigências do mercado consumidor cada vez mais atento às práticas de bem-estar animal bem como para a redução do uso de antibióticos na cadeia produtiva (TOLEDO et al., 2007).

Especificamente, com relação ao uso de antibióticos na produção animal, cabe ressaltar que para os principais países importadores de carne de frango o uso de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) está proibido e o uso de antibióticos com finalidade terapêutica está amplamente controlado. Segundo McMullin (2004) o uso de AMD em rações foi abolido na Comunidade Europeia em razão do temor pelo surgimento de resistência em relação a alguns antibióticos de uso comum na linha humana. Essa forte influência para a eliminação do uso de AMD na produção animal culminou em 2006, com a proibição pela União Européia dos últimos AMD em uso – a flavomicina e a avilamicina. Dessa maneira, o país interessado em manter a relação comercial com os mercados mais exigentes tem de se adaptar para atender as exigências de seu consumidor.

Em razão do elevado grau de exigência dos mercados consumidores, bem como pela constante necessidade de redução de custo produtivo e pelo aumento de demanda mundial por produtos avícolas, se torna imprescindível a implementação de ferramentas e/ou técnicas que possibilitem a busca por melhores resultados na cadeia produtiva avícola.

Nesse cenário, os ácidos orgânicos, que são constituintes naturais das plantas e dos animais, podendo alguns serem formados através da fermentação microbiana no intestino e outros nas rotas metabólicas intermediárias (LEHNINGER; NELSON; COX, 1993), se apresentam como opção às agroindústrias como ferramenta nutricional complementar. Ácidos orgânicos podem auxiliar na manutenção e/ou melhoria da qualidade intestinal e,

consequentemente, podem auxiliar na busca por melhores resultados produtivos podendo inclusive ter o seu uso proposto como alternativa à utilização dos antimicrobianos que estão cada vez mais restritos na produção animal (PIVA et al., 2007).

No que tange aos quesitos de desempenho animal e qualidade de produtos, os ácidos orgânicos são aditivos alimentares que podem apresentar respostas positivas frente a um ponto-crítico da produção animal: o controle da população microbiana intestinal. Ácidos orgânicos podem proporcionar efeito antimicrobiano específico à semelhança dos antibióticos, principalmente no caso dos ácidos orgânicos de cadeia curta, sendo particularmente efetivos contra *E. coli*, *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp.* (DIBNER & BUTTIN, 2002; RICKE, 2003).

Além disso, outra problemática na criação de animais de ciclo curto (como é o caso dos frangos de corte), diz respeito à integridade e a qualidade intestinal dos animais. Nesse sentido, pesquisas demonstram que os ácidos orgânicos podem proporcionar benefícios, tais como: melhoria da digestibilidade de nutrientes, melhoria do desempenho, contribuição nutricional e o amadurecimento e a melhoria da morfologia intestinal (RUSSEL, 1992; PARTANEN; MROZ, 1999; SNOW; BAKER; PARSONS, 2004; LEESON; NAMKUNG; ANTONGIOVANNI, 2005; RAFACZ-LIVINGSTONE; PARSONS; JUNGKT, 2005). Os ácidos orgânicos também contribuem com a biologia intestinal normal melhorando a absorção de água e sais e também podem contribuir com a manutenção da integridade da barreira intestinal (KORUDA et al., 1990).

De acordo com Leandro et al. (2010), o uso de ácidos orgânicos na avicultura industrial tem avançado nos últimos anos, sendo que os mais utilizados neste setor são o fórmico, o acético, o propiônico, o butírico, o láctico, o cítrico e o fumárico.

Desafios entéricos têm grande relevância sobre o desempenho animal e sobre os custos produtivos, especialmente para animais precoces como é o caso dos frangos de corte (SHIRLEY; SMITH; BLAKE, 2007). Devido ao fato de que o butirato de sódio demonstra ter especial atuação sobre a nutrição de enterócitos e sobre a manutenção/regeneração do epitélio intestinal, esse aditivo alimentar pode se enquadrar como importante ferramenta para auxiliar profissionais ligados às áreas de nutrição e sanidade avícola, reduzindo os impactos negativos de desafios entéricos comumente observados a campo.

Por haver ampla possibilidade de atuação dos ácidos orgânicos, existe diversos protocolos de pesquisa avaliados em experimentos ou mesmo a campo pelas universidades e agroindústrias. Os inúmeros protocolos propostos (tipo de ácido, isolado ou *blend*, apresentação (protegido ou não), concentração, dose de inclusão, finalidade de uso, entre outros) mostram

grande variação de resultados onde, por vezes, os pesquisadores apresentam efeitos positivos e consistentes, mas em outros estudos os efeitos não mostram tal eficácia.

Em razão da relevância da qualidade intestinal sobre o desempenho dos frangos de corte e o grande potencial a ser oferecido pelos ácidos orgânicos, o presente estudo tem como propósito investigar os efeitos do butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo, a morfologia e saúde intestinal e o rendimento de carcaça de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, submetidos ou não a um modelo de desafio experimental.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 AVICULTURA INDUSTRIAL BRASILEIRA

Segundo dados históricos, a comercialização de aves no Brasil se iniciou por volta de 1860 em Minas Gerais, quando o estado começou a vender galináceos e laticínios para outras regiões do país (LANA, 2000). Naquele período, a criação era campestre e as aves demoravam cerca de seis meses para atingir o peso de abate que era de aproximadamente 2,5kg. Na década de 30, o cenário brasileiro era bem diferente; havia grandes centros populacionais que demandavam considerável abastecimento de gêneros alimentícios, sendo que com a ampliação do conhecimento e de técnicas, fez com que fosse impulsionada a avicultura nacional. Medidas políticas de incentivo aceleraram o desenvolvimento de setores do agronegócio brasileiro fazendo com que as produções agrícolas melhorassem seus índices produtivos. Devido a essas medidas, os anos de 1930 ficaram definidos como “início de uma nova etapa para a avicultura brasileira” (ABPA, 2011).

Transcorridas algumas décadas, onde houve grande evolução produtiva, a avicultura brasileira passou a ocupar posição destacada no cenário global e isso faz com que nacionalmente os números da representatividade deste setor produtivo na economia ganhem destaque especial. Com relação ao Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro, 1,5% é representado pela avicultura (cerca de R\$ 36 bilhões/ano) e esse número expressivo é gerado pela mão trabalhadora de aproximadamente 5 milhões de pessoas de forma direta ou indireta em todo país (MENDES, 2014). Atualmente, o Brasil é considerado o principal exportador de carne de frangos, especialmente após os surtos de *Influenza aviária* ocorridos na Ásia em meados dos anos 2000 (MARTINS, 2005). Além disso, o Brasil ocupa o posto de segundo maior produtor, ficando atrás apenas dos EUA (ABPA, 2017).

## 2.2 MORFOLOGIA E ESTRUTURA GERAL DA PAREDE DO INTESTINO DAS AVES

O TGI das aves é composto pelo bico (ou boca), faringe, esôfago, papo, proventrículo, moela, intestino delgado, intestino grosso, cloaca e os órgãos glandulares (glândulas salivares, fígado e pâncreas) que não fazem parte do trato, mas secretam substâncias dentro dele via ductos conectando os órgãos ao trato. Histologicamente, o TGI das aves é composto por quatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa, com exceção do esôfago e inglúvio que ao invés de possuir túnica serosa, possui a túnica adventícia (BOLELI; THIMOTHEO, 2017).

A mucosa do intestino delgado não apresenta as pregas macroscópicas observadas em mamíferos, mas possui muitas dobras microscópicas denominadas vilosidades ou vilos, que proporcionam aumento na superfície interna do órgão, ou seja, na área de digestão e absorção intestinal (BOLELI; MAIORKA; MACCARI, 2002). Os vilos são constituídos por três tipos de células, funcionalmente distintas: enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas. Os enterócitos são células que respondem pela digestão final do alimento e pelo transporte transepitelial dos nutrientes a partir do lúmen. Estas células apresentam um processo de maturação que ocorre durante o processo de migração da cripta (base) para o ápice do vilos, e é dependente de estímulos para sua diferenciação (BOARO, 2009). As células caliciformes são secretoras de glicoproteínas, que tem a função de proteger o epitélio intestinal da ação de enzimas digestivas e efeitos abrasivos da digesta. As células enteroendócrinas são produtoras de hormônios peptídicos como gastrina, secretina, colecistoquinina e monoaminas biogênicas, substâncias essas que participam da regulação da digestão, absorção e utilização dos nutrientes (BOARO, 2009).

Rutz et al. (2015) mencionam que este arranjo anatômico confere ao intestino uma adequada superfície absorptiva, que permite aves e mamíferos absorver eficientemente água e nutrientes. Esses pesquisadores também comentam que a capacidade absorptiva do TGI pode ser substancialmente afetada por substâncias como toxinas e patógenos que podem lesionar a superfície intestinal reduzindo a sua capacidade de absorção de nutrientes e, conseqüentemente, provocando danos ao desempenho animal e perdas econômicas às empresas avícolas.

A maior superfície de contato do organismo com o meio externo são as mucosas e se constitui, por isso, num importante local de interações entre estes dois meios. A mucosa do tubo digestivo apresenta uma área com cerca de 150 a 200 m<sup>2</sup>, em um ser humano adulto (MOOG, 1981). Os tecidos intestinais representam cerca de apenas 5% do peso corporal, mas consomem

entre 15 e 30% de todo aporte de O<sub>2</sub> e proteínas do organismo (GASKINS, 2001), além de cerca de 20% da energia bruta consumida (McBRIDE & KELLY, 1990), devido à alta taxa de renovação e intensa atividade metabólica das células. Neste sentido, o intestino não é mais reconhecido apenas pela sua importante função associado aos processos de digestão e absorção, mas também pelo importante papel imunológico na defesa contra as agressões do meio externo (GUARNER, 2006). O epitélio intestinal possui a capacidade de impedir que substâncias indesejáveis como microrganismos e toxinas presentes no lúmen intestinal atravessem a mucosa e atinjam tecidos e órgãos.

A camada de muco limita a capacidade adesiva de bactérias patogênicas e possui carboidratos complexos que podem servir de alimento para as bactérias benéficas (DAI et al., 2000). Outro mecanismo protetor fundamental é a integridade da mucosa que é mantida por junções espessas (*tight junctions*) entre as células intestinais funcionando como barreiras, permitindo os processos de permeabilidade intestinal de nutrientes, mas restringindo a penetração de patógenos (KINUGASA et al., 2000). Estima-se que cerca de 70% do sistema imune das aves esteja no TGI buscando constantemente manter o equilíbrio para melhor proteger essa região vital (RUTZ et al., 2015). A mucosa intestinal é também constituída por tecido linfóide que representa o maior *pool* de células de defesa do organismo (células B do Sistema Imune, produtos de IgA, células apresentadoras de antígenos, linfócitos T, linfócitos intraepiteliais) que promove uma resposta inflamatória local, evitando a invasão de tecidos por organismos patogênicos (SANSONETTI, 2006).

A digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes são processos dependentes da manutenção da saúde da mucosa intestinal. As lesões causadas em enterócitos, pela espoliação decorrente a infecção por parasitos, vírus ou bactérias como pelo aporte de nutrientes e maior gasto energético pelo animal, para produção de células de defesa e/ou para recuperação do epitélio lesionado podem impactar negativamente a função intestinal (BOROSKY, 2012),

## 2.2.1 PROCESSOS DE REPARAÇÃO E REGENERAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL

Segundo Franco (2010), em condições normais o animal tem um gasto em torno de 20% da energia bruta consumida para manutenção do epitélio intestinal. Quando os tecidos intestinais são lesionados, ocorre redução da quantidade de substrato digerido e absorvido pelo animal, além de resultar em maior demanda energética para a renovação celular. De acordo com Hafez (2009), as desordens entéricas podem ser causadas por diversos agentes patogênicos

(vírus, bactérias e parasitas) associados com outros microrganismos ou com algumas causas não infecciosas como alimentos e manejo podendo afetar consideravelmente os resultados e a qualidade dos produtos.

A renovação celular da mucosa intestinal é um processo contínuo que se dá pelo equilíbrio entre os processos de proliferação e diferenciação celular e a perda de células por descamação (UNI, 2000), mecanismo conhecido como *turnover* celular. Entretanto, considerando a complexidade multifuncional da mucosa intestinal e a idade do animal (quanto mais jovem, menor é o tempo de *turnover*), um completo *turnover* pode variar de 24 a 96 horas (MURAROLLI, 2008), o que significa quase 10% do tempo de vida de um frango de corte convencional no modelo de abate brasileiro. Assim, segundo Furlan (2010), as perdas em ganho de peso nesse período de recuperação podem chegar a 5 toneladas de carne considerando um lote de 20 mil frangos. Portanto, o intestino é um órgão metabolicamente dispendioso e extremamente afetado se a ingestão de nutrientes for diminuída ou se a mucosa intestinal for exposta aos antígenos provenientes de alimentos, bactérias residentes e microrganismos invasores (WITTIG; ZEITZ, 2003).

A múltipla interação entre os mecanismos de defesa da mucosa intestinal e a constante remodelação da mucosa intestinal, tem estabelecido uma influência direta da nutrição neste processo. Alguns nutrientes da dieta podem influenciar de forma positiva a capacidade de renovação da mucosa intestinal, pois modificam sua estrutura e metabolismo, resultando em melhora da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes pelas aves (FREITAS; BAIÃO; NUNES, 2001). Essas substâncias são consideradas agentes tróficos capazes de estimular o processo mitótico e, como consequência, aumentar o número de células e o tamanho dos vilos (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2008).

O rápido reparo da barreira epitelial intestinal após lesões ou danos fisiológicos é essencial para preservar a capacidade de digestão e absorção de nutrientes. Observações ao longo dos últimos anos demonstraram a capacidade do trato intestinal para restabelecer rapidamente a integridade da mucosa após sofrer uma injúria por pelo menos três mecanismos distintos. Primeiro, as células epiteliais próximas migram para a área lesionada na tentativa de recobrir o local (SVANES et al., 1982). Este processo é chamado de restituição e não requer a proliferação de células e ocorre dentro de minutos ou horas após a injúria.

Um segundo modo de ação ocorre quando se faz necessário a proliferação de novas células para reposição do *pool* de células utilizadas. Nas criptas intestinais, estruturas localizadas entre as vilosidades, se encontram as células basais (células tronco) responsáveis pela renovação celular dos enterócitos (UNI, 2006). Em terceiro lugar, é necessário ocorrer a

maturação das células epiteliais para manter as inúmeras atividades funcionais da mucosa intestinal. O surgimento de “enterócitos imaturos” com baixa capacidade absorptiva, bem como reduzida atividade das enzimas na bordadura em escova pode comprometer a absorção de nutrientes e conseqüentemente o desempenho produtivo (PORTER JÚNIOR, 1998).

O gasto metabólico e o tempo para ocorrer os processos de restituição, proliferação e maturação dependem da gravidade do desafio entérico e da disponibilidade de nutrientes. Em situações de extenso grau de injúria pode haver redução da altura das vilosidades em decorrência do aumento na taxa de descamação epitelial resultante do incremento da profundidade da cripta, visando assegurar a adequada taxa de *turnover* celular e garantir a reposição das perdas de células da região apical das vilosidades. O número e o tamanho dos vilos dependem do número de células que os compõem. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilos, e por conseqüência, maior é a área de absorção de nutrientes. A maior relação vilos/cripta está associada com o equilíbrio entre a renovação e a proliferação celular (JEURISSEN et al., 2002), melhor estado de saúde intestinal (VIOLA; VIEIRA, 2007) e a melhor absorção de nutrientes devido às menores perdas energéticas com renovação celular.

A presença de nutrientes no lúmen é fator estimulante do crescimento dos vilos e criptas (BARANYIOVÁ; HOLMAN, 1976). O termo “nutrição local” foi definido por Johnson (1979) como o efeito nutricional dos produtos da digestão sobre as células absorptivas ou da simples presença de nutrientes no lúmen intestinal. Isso implica que os nutrientes não precisam ser necessariamente absorvidos para exercerem o seu efeito trófico.

Diante do exposto, fica evidente a importância do conhecimento dos processos fisiológicos e a relação com a saúde intestinal visando à expressão do máximo potencial zootécnico dos frangos de corte. Considerando que a ração representa cerca de 70% dos custos de produção, a integridade dos mecanismos digestivos e absorptivos dos nutrientes no trato digestivo é de vital relevância para o bom desempenho das aves e a lucratividade da cadeia avícola (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002; PENZ, 2017).

### 2.2.2 MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

A complexa comunidade de microrganismos residindo ou transitando pelo TGI é definida como microbiota intestinal (GERRITSEN et al., 2011). O número de células microbianas (bactérias, fungos e protozoários) em equilíbrio que estão presentes naturalmente no TGI suplanta o número de células presentes no corpo do animal hospedeiro (TANNOCK, 1998; FUJIMURA et al., 2010).

Segundo ITO et al. (2004) a microbiota intestinal dos frangos de corte é considerada um ecossistema complexo, formado por mais de 500 espécies e por aproximadamente  $10^{11}$  UFC/g de conteúdo intestinal o que corresponde a aproximadamente 10 células bacterianas para cada célula do animal hospedeiro.

A formação da microbiota ocorre logo após o nascimento das aves e vai aumentando durante as primeiras semanas de vida (FURLAN et al., 2010). Ao longo do trato gastrointestinal, o número e a composição dos microrganismos do trato variam consideravelmente, pois vários fatores determinam qual microbiota conseguirá se adaptar ao meio. Podem ser citados como fatores que interferem na colonização do TGI: diferenças de pH luminal, tipo de alimentação, ambiente de criação, disponibilidade de oxigênio, concentração de sais biliares e a presença de bacteriocinas e ácidos graxos voláteis (ITO et al., 2004). Além disso, o estresse, procedimentos medicamentosos, aplicação de vacinas, densidade de alojamento podem afetar o equilíbrio microbiano e, conseqüentemente, interferir no resultado produtivo (ANDREATTI FILHO & SAMPAIO, 1999).

O equilíbrio da microbiota intestinal traz benefícios ao organismo como a produção de vitaminas (B, K, E), estímulo ao sistema imune, inibição do crescimento de bactérias patogênicas, redução da produção de gases, proporcionando com isso melhor digestão e absorção dos nutrientes. Em contrapartida, condições de desequilíbrio dessa microbiota podem resultar na proliferação de microrganismos patogênicos, infecções localizadas ou sistêmicas, putrefação intestinal, formação de toxinas, distúrbios hepáticos, o que compromete o potencial produtivo das aves (JEURISSEN et al., 2002).

A presença e a composição da microbiota no trato intestinal estimulam a maturação do epitélio de uma maneira orquestrada (EL AIDY et al., 2012). A microbiota contribui para a renovação intestinal e promove resistência contra patógenos intestinais (BUCHON et al., 2009). Membros da microbiota, estimulam no epitélio intestinal, a produção de dissacaridases (KOZAKOVA et al., 2006) e a motilidade do trato (BARBARA; STANGHELLINI; BRANDI, 2005). Entretanto, a presença e a composição da microbiota intestinal pode resultar em efeitos positivos ou negativos sobre o desenvolvimento das aves de acordo com sua constituição e atividade., exercendo efeito sobre a bioquímica, fisiologia, imunologia e a resistência do

hospedeiro (TANNOCK, 1998). Dessa forma, a microbiota intestinal tem grande influência sobre o desenvolvimento do TGI e sobre o desempenho de frangos de corte por estar intimamente ligada à utilização adequada dos nutrientes e, conseqüentemente, exerce efeito sobre a bioquímica, fisiologia, imunologia e a resistência do hospedeiro (TANNOCK, 1998). Em razão disso, há influência nas taxas de crescimento do hospedeiro, seja por disponibilizar nutrientes ou pela produção de moléculas ainda desconhecidas, mas com grande impacto sobre a conversão alimentar (YANG et al. 2009; STANLEY et al., 2012).

Corroborando com a descrição acima citada e ressaltando a importância da microbiota intestinal, pesquisadores ao estudarem animais *germ-free* (animais que são criados em ambientes estéreis e alimentados com água e ração isentos de microrganismos) identificaram que esses indivíduos apresentaram TGI marcadamente diferente em comparação as aves de criação comercial convencional. Para os *germ-free*, o intestino apresentou vilosidades menores, lâmina própria mais fina e reduzida taxa de renovação do tecido epitelial, o que resultou em um processo de absorção de nutrientes e, conseqüentemente, apresentaram uma maior necessidade nutricional. Em adição, o ceco de um animal *germ-free* é bastante distendido, apresenta grande quantidade de muco intestinal que se acumula no local fazendo com que as fezes desses animais sejam pastosas (COATES e GUSTAFSSON, 1984; FOX, 2007; SMITH; McCOY; MACPHERSON, 2007; MACARI; LUNEDO; PEDROSO, 2014), mostrando a importância da relação simbiótica da microbiota com o hospedeiro.

Macari et al. (2014) mencionam que a microbiota do intestino de aves não é fixa. Cada fase de desenvolvimento do organismo apresenta concentração de células, número e composição de espécies variável em função da idade da ave e do segmento intestinal em questão.

O TGI quando analisado crânio-caudalmente, apresenta diferentes características físico-químicas e isso influencia no perfil de microbiota que habita cada região.

No papo, os principais microrganismos encontrados são os *Lactobacillus* spp. (DIONÍSIO, 2007) que produzem ácido láctico mantendo o pH aproximado de 4,5.

Gabriel et al. (2006) mencionam que no proventrículo há secreção de pepsina e de ácido clorídrico, baixando ainda mais o pH (aproximadamente 4,4). Essas secreções influenciam o pH tanto do proventrículo quanto da moela (pH: 2,46, a 2,79) e inibem o crescimento das populações microbianas indesejadas. No duodeno, à semelhança da moela, a concentração microbiana é baixa. Fatores como a presença de enzimas digestivas, movimentos antiperistálticos, alta pressão de oxigênio, sais biliares e pH entre 5 – 6 dificultam o crescimento bacteriano. Nesse ambiente predominam bactérias aeróbicas.

Chegando às porções mais distais, as características se modificam e tornam-se mais favoráveis ao crescimento bacteriano. No íleo há diminuição da pressão de oxigênio e redução da concentração de sais biliares favorecendo o crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos. Já no ceco, há facilidade para proliferação microbiana, especialmente de indivíduos estritamente anaeróbios ou facultativos (APAJALATHI; KETTUNEN; GRAHAM, 2004).

Como vantagens ao hospedeiro, a microbiota intestinal exerce uma espécie de competição com agentes invasores, que ocasionalmente podem apresentar-se patogênicos, e essa disputa pode ser chamada de exclusão competitiva, minimizando a ocorrência de enfermidades. Outro benefício proporcionado pela microbiota intestinal é o desenvolvimento de defesas intestinais como a camada de muco entre a camada epitelial e a lâmina própria. A camada de muco segrega microrganismos comensais e patogênicos e o epitélio serve de barreira à invasão dos microrganismos. Além destes benefícios, a microbiota comensal produz e secreta nutrientes como vitaminas, aminoácidos e ácidos de cadeia curta (propiónico, acético, butírico e láctico). Estes últimos, os ácidos de cadeia curta, podem fornecer energia e na forma não dissociada estimulam a proliferação de células intestinais e o tamanho das vilosidades o que, conseqüentemente, amplia a superfície de contato (MOQUET et al., 2016).

Para poder manter toda essa massa de microrganismos, o hospedeiro necessita de um aporte energético. Segundo pesquisadores, apesar do peso do trato intestinal representar apenas 5% do peso corporal, a demanda da microbiota intestinal por oxigênio varia de 20% a 35% do total consumido pelo hospedeiro. Isso se deve ao fato de que a taxa de renovação celular e de metabolismo da microbiota intestinal é elevada. Além disso, parte da energia ingerida acaba sendo utilizada pelo próprio hospedeiro para manter ativa a resposta imune/inflamatória intestinal em razão das toxinas e metabólitos secretados pela microbiota comensal que precisam ser neutralizados constantemente (GASKINS, 2001; APAJALAHTI, 2005).

### 2.2.3 COCCIDIOSE

A coccidiose das aves domésticas é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eucoccidia: Eimeriidae). Esses parasitas são responsáveis pela ocorrência da doença que tem grande importância devido à intensidade das lesões remanescentes. Os parasitas do gênero *Eimeria* sp. multiplicam no trato intestinal e causam danos aos tecidos, resultando em: interrupção do consumo de alimentos, danos ao processo digestivo e/ou à absorção de nutrientes, desidratação, perda de sangue e aumento da susceptibilidade a outros patógenos. Assim, como para muitos outros agentes parasitários, a coccidiose é, em grande parte, uma doença que acomete aves jovens, pois o desenvolvimento imune ocorre rapidamente após a exposição e protege os animais de surtos posteriores. No entanto, não existe proteção cruzada entre espécies de *Eimeria* nas aves, e os surtos posteriores podem ser em decorrência de infecção por outras espécies do gênero. Altas morbidade e mortalidade são características dessa doença (McDOUGALD, 2003).

Os protozoários do gênero *Eimeria* vivem intracelularmente ao longo do epitélio intestinal das aves. Todas as espécies desse gênero apresentam alto grau de especificidade ao hospedeiro e ao intestino, ocorrendo apenas em aves domésticas. O termo “especificidade ao hospedeiro” refere-se à restrição de uma espécie de parasita a um ou mais hospedeiros específicos (KAWAZOE, 2000).

Em razão da ampla distribuição de ocorrência da doença e dos desafios que podem se manifestar de forma sutil (sub-clínica) ou aguda (clínica) abrindo portas para outras infecções, a coccidiose é causadora de grandes perdas zootécnicas e financeiras. As perdas econômicas anuais ligadas a coccidiose podem ultrapassar a US\$ 1 bilhão, configurando-se assim em uma das principais enfermidades da avicultura industrial (SHIRLEY; SMITH; BLAKE, 2007). Borges (2000) comenta que em produções industriais, a mortalidade não é o maior problema causado pela coccidiose, mas sim a enfermidade subclínica, pois causa redução de desempenho que, em muitos casos, são sutis e imperceptíveis pelas equipes de campo, porém no volume acumulado de lotes acometidos se configuram em grandes prejuízos econômicos.

Como já mencionado anteriormente, não há proteção cruzada para diferentes espécies de *Eimeria* e, além disso, as diferentes cepas apresentam tropismo por distintas regiões do epitélio entérico. Sete são as espécies que podem acometer galinhas/frangos: *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. praecox* e *E. necatrix*, sendo as três primeiras eimérias as espécies mais comumente encontradas e, conseqüentemente, as que causam maiores perdas econômicas (SHIRLEY et al., 2004).

As grandes perdas causadas por coccidiose mundo afora podem ser justificadas pelo fato de que os oocistos têm boa adaptação e resistência ao ambiente de criação das aves e são

pouco sensíveis aos desinfetantes convencionais, permanecendo viáveis por vários meses fora de seu hospedeiro (ALLEN; FETTERER, 2002).

O comprometimento do desempenho está relacionado a redução da capacidade absorptiva dos nutrientes da dieta bem como pelo comprometimento do sistema imune, tornando os animais mais susceptíveis a infecções secundárias, especialmente bacterianas. Além disso, os lotes que apresentam desafio entérico têm maiores demandas energéticas para a mucosa intestinal, visto que necessitam recuperar os tecidos acometidos. Para isso, o corpo requisita uma demanda energética maior do que o normal. Esse requerimento extra de energia poderia estar sendo canalizado para outros tecidos como, por exemplo, para o desenvolvimento do tecido muscular (MAIORKA et al., 2004).

Como ferramentas para prevenção e controle da coccidiose, fazem-se necessário manter ativo um bom programa de biossegurança, manter boa qualidade e baixa umidade da cama das aves para dificultar a viabilidade de eimerias no ambiente e criação. Além disso, a equipe técnica de campo tem grande importância, pois através do conhecimento e observações diárias da equipe é possível monitorar a eficácia do programa de controle da coccidiose que pode ser feito por adição de produtos específicos via ração (anticoccidianos) ou então pelo uso de vacinas vivas nos primeiros dias de vida do lote (KAWAZOE, 2000). Além do controle químico e biológico, a área técnica das agroindústrias pode fazer uso de aditivos alimentares para prevenir ou controlar a coccidiose. Ácidos orgânicos, por exemplo, são produtos que podem ser utilizados em substituição aos AMD (SANTOS; POLI; PADILHA, 2004) e podem reduzir a carga microbiana do TGI (BELLAVAR; SCHEUERMANN, 2004), melhorar a qualidade intestinal, reduzir o pH gástrico com possível aumento da atividade de algumas enzimas e promover aumento na proliferação de células intestinais do cólon e do jejuno (MAIORKA et al., 2004) melhorando o desempenho do animal.

### **2.3 USO DE ADITIVOS EM RAÇÕES**

Os aditivos alimentares são substâncias ou microrganismos adicionados intencionalmente, com ou sem valor nutritivo, promovendo melhor desempenho e alterando as características do produto final. Atualmente, há uma grande variedade de aditivos empregados nas rações avícolas, como antibióticos, probióticos, prebióticos, aminoácidos, vitaminas, microminerais, ácidos graxos, entre outros (HUYGHEBAERT; DUCATELLE; VAN IMMERSSEEL, 2011).

Desde a década de 80, o uso de alguns aditivos na dieta vem sendo questionado, principalmente os antibióticos, pelo risco à resistência bacteriana (McMULLIN, 2004). O uso de antibióticos de maneira profilática, como “melhoradores de desempenho” deixou de ser usado em diversos países, principalmente a comunidade europeia, desde 2006. Diante da proibição foi necessária a busca de produtos alternativos aos antibióticos a fim de manter os altos níveis de desempenho das aves. Dentre estas alternativas aos antibióticos, podem ser citados os acidificantes (ácidos orgânicos) usados na alimentação animal (via ração ou água de bebida) com o propósito de tornar mais eficiente a utilização dos nutrientes contidos nos ingredientes da ração sem oferecer riscos à saúde dos consumidores (BARBOSA, 2009).

### 2.3.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS

A utilização dos ácidos orgânicos na indústria alimentícia e nutrição animal já decorrem de alguns anos. Na década de 80, pesquisas de métodos de preservação de cereais colhidos com alto teor de umidade demonstraram que o uso de ácidos prolonga o período de armazenamento melhorando a conservação, especialmente, frente à colonização por fungos. Em países desenvolvidos, é uma prática bem aceita e menos onerosa do que a secagem artificial. Os ácidos e sais orgânicos são populares e muito bem documentados na produção de suínos, mas em avicultura o uso e os estudos sobre esses aditivos são mais recentes (McCARTNEY, 2008). Ao ser comparado o valor nutritivo do milho preservado com ácido orgânico e com aquele preservado por outros métodos, foi verificado um maior desempenho de animais alimentados com milho tratado com ácido. Tais resultados motivaram a realização de pesquisas para testar os referidos ácidos como promotores de crescimento (TEIXEIRA, 1997).

Quimicamente, os ácidos orgânicos são moléculas providas de grupo carboxila, podendo se apresentar de duas maneiras: dissociados ( $\text{COOH}^-$ ) ou não dissociados ( $\text{R-COOH}$ ), e quando metabolizados podem gerar compostos como aminoácidos, ácidos graxos, metabólitos

intermediários e coenzimas (LEHNINGER; NELSON; COX, 1993; DIBNER; BUTTIN, 2002; PICKLER et al., 2012).

Os ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) constituem um grupo de moléculas que contêm de um a sete átomos de carbono, compondo uma cadeia linear ou ramificada. Eles se originam principalmente da fermentação bacteriana intestinal de materiais vegetais, como celulose, fibras, amidos e açúcares, uma vez que as aves não possuem as enzimas necessárias para digerir esses compostos (GUILLOTEAU et al, 2010a). Entre os SCFA, o ácido acético, propiônico e butírico são as formas predominantes. Como os SCFA são ácidos fracos com um pKa de 4,8 e o pH dos segmentos inferiores do trato gastrointestinal é quase neutro, 90-99% dos SCFA estão presentes mais como ânions do que como ácidos livres (MOQUET et al., 2016).

Existem inúmeras hipóteses quanto aos mecanismos de ação dos acidificantes, dentre as quais: a alteração da microbiota intestinal por ação bactericida ou bacteriostática, redução do pH estomacal (suínos) ou do papo (aves), melhor atividade de enzimas, melhor digestibilidade e retenção de nutrientes (RODRIGUEZ-PALENZUELA, 2000; MAIORKA et al., 2004; MONTEIRO, 2004; BELLAVÉ; SCHEUERMANN, 2004).

Entre os SCFA, o ácido butírico tem recebido atenção especial como um aditivo alimentar para frangos de corte. No entanto, a utilização do butirato de sódio (que é um sal derivado do ácido butírico) tem sido priorizada por ser sólido, mais estável e causar menos desconforto ao ser manipulado por ter odor menos intenso. Além disso, o butirato de sódio pode ser utilizado nas formas livre ou protegida (microencapsulada). O composto quando não protegido atuará apenas na parte proximal do trato digestivo (BOLTON; DEWAR, 1965; HUME et al., 1993; THOMPSON; HINTON, 1997), enquanto que o butirato de sódio microencapsulado irá atuar na porção posterior do trato gastrointestinal (VAN IMMERSEEL et al., 2004).

Os acidificantes protegidos estão inseridos no grupo dos aditivos equilibradores da microbiota do trato gastrintestinal. Dependendo do pKa do ácido orgânico, pode reduzir o pH do meio gastrintestinal, eliminando grande parte das bactérias patogênicas e selecionando as benéficas, as quais sobrevivem em pH ácido. Porém, a principal ação antimicrobiana acontece sem reduzir o pH do meio. Ácidos orgânicos são facilmente absorvidos pela 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 morrem. 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 (DIBNER; BUTTIN, 2002).

Além disso, Onrust et al. (2015) cita respostas favoráveis ao uso de ácidos orgânicos protegidos em termos de manutenção da saúde intestinal, como fonte de energia para células intestinais, também podendo atuar positivamente sobre a proliferação, diferenciação e maturação de células intestinais, além da manutenção da integridade da barreira intestinal e, em consequência, maior eficiência alimentar e ganho de peso.

Estudos mostraram ainda que os efeitos do butirato podem também ser associados ao controle de patógenos intestinais de frangos de corte, como *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* e modulação da população de *Lactobacillus* (VAN IMMERSEEL et al., 2004; HU; GUO, 2007; TIMBERMONT et al., 2010).

A suplementação de dietas de frangos de corte com fontes sintéticas de butirato tem mostrado resultados favoráveis (LEESON; NAMKUNG; ANTONGIOVANNI, 2005; HU; GUO, 2007; TIMBERMONT et al., 2010; QAISRANI et al., 2015). Entretanto, em outros estudos como os de Henrique et al. (1998) e Chaveerach et al. (2004) não foram percebidas melhorias com o uso de ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte.

Os efeitos da suplementação de butirato sobre o desempenho do crescimento, no entanto, são por vezes inconsistentes e seu modo de ação ainda não é totalmente compreendido. Fatores como nível de inclusão, composição da dieta, interação com outros aditivos ou nutrientes dietéticos, idade e estado de saúde das aves devem ser levados em consideração ao avaliar os efeitos dos derivados de butirato (GUILLOTEAU et al, 2010b, CERISUELO et al., 2014).

Acrescentado aos fatores supracitados, o ácido butírico é disponível comercialmente como sal de Na, K, Mg ou Ca, o que pode influenciar sua solubilidade. Também são relatadas diferenças nos produtos comerciais em relação a uniformidade das partículas devido a diferenças no processo de obtenção, bem como a seco por pulverização em torre *spray dry* ou mistura seca (GUILLOTEAU et al, 2010b).

A suplementação dietética com fonte de butirato não revestido pode levar a absorção ou inatividade da molécula antes de atingir as porções distal do intestino delgado (VAN DER WIELEN et al., 2002), já a utilização de fontes protegidas (microencapsulada) permite a liberação ao longo do trato gastrointestinal inferior, a nível principalmente de íleo e ceco (BOLTON; DEWAR, 1965; HUME et al., 1993; THOMPSON; HINTON, 1997; VAN IMMERSEEL et al., 2004; 2005; SIKANDAR et al., 2017).

O butirato de sódio pode ainda reforçar a barreira de defesa, aumentar a produção de mucinas (SIKANDAR et al., 2017), beneficiar a morfologia intestinal (SENGUPTA et al.,

2006), promover absorção de água e sódio (BOND; LEVIT, 1976), reduzir o pH e modular a microbiota intestinal e o sistema imune.

Em virtude das mudanças de comportamento e exigências do mercado consumidor no cenário global bem como pela busca constante de evolução nos resultados produtivos, é fundamental a continuidade de estudos com aditivos melhoradores de desempenho que possam substituir os AMDs, bem como pelo fato de poder auxiliar na busca por melhores resultados produtivos. Nesse contexto, a aceitabilidade dos ácidos orgânicos e o crescente conhecimento técnico sobre esses produtos fortalecem a tendência de uso na cadeia avícola.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **The saga of the Brazilian poultry industry: how Brazil has become the world's largest exporter of chicken meat.** Coordenação e tradução de Sérgio Costa. Rio de Janeiro: Insight; São Paulo: UBABEF, 2011.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal (São Paulo). **Relatório Anual: 2017.** Disponível em: <[http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web\\_reduz.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduz.pdf)>. Acesso em: dez. 2017.
- ALLEN, P.C., FETTERER, R.H. **Recent advances in biology of Eimeria species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry.** Clin Microb Rev 2002; 15: 58-65.
- ANDREATTI FILHO, R.L.; MESTRINEL, JR.P.; SAMPAIO, H.M.; CROCCI, A.J. **Efeito da vacina contra coccidiose sobre a colonização de Salmonella Enteritidis em frangos de corte tratados com microbiota cecal anaeróbia.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 51, n. 4, p. 311-316, 1999.
- APAJALATHI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 60, n. 2, p. 223-32, 2004.
- APAJALAHTI, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 14, p. 444-453, 2005.
- ARTONI, S.M.B. Anatomia do sistema digestório das aves. In: **Apostila.** Curso de Fisiologia da Digestão e Metabolismo de Nutrientes em Aves. Jaboticabal: Unesp. 2004. 1 CD-ROM
- BARBOSA, N.A.A.; **Avaliação de aditivos em dietas de frangos de corte.** 2009. p.20 Tese (Doutorado em Zootecnia) – Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
- BARANIYOVÁ, E.; HOLMAN, J. 1976. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinaria Brno**, 45:151-158.
- BARBARA, G.; STANGHELLINI, V.; BRANDI, G. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. **American Journal of Gastroenterology**, 100:2560-2568, 2005.
- BARRETO, M.S.R. **Uso de extratos vegetais como promotores do crescimento em frangos de corte.** 2007, 16f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.
- BELL, D.D. Anatomy of the chicken. In: BELL, D.; WEAVER, W. (Eds.). **Commercialchicken meat and egg production.** 5th ed. New York: Springer Science-Business Media, 2002, p. 41-58.

- BELLAVER, C.; SCHUERMAN, G. Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte. **AVESUI 2004**. Disponível em [http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=palestras&cod\\_arquivo=13](http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=palestras&cod_arquivo=13). Acessado em 30/01/2018.
- BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. In: **Anais**. Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas, SP, p. 262-74, 2009.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Desenvolvimento e Reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M; FURLAN, R. L.; GONZÁLES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 2002, p. 113-23.
- BOLELI, I; THIMOTHEO, M. Estrutura funcional do trato gastrointestinal: da percepção à absorção. In: MACARI, M; MAIORKA, A. (Ed.). **Fisiologia das aves comerciais** 1.ed. Jaboticabal: UNESP, 2017. 234-245.
- BOLTON, W.; DEWAR, W.A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. **British Poultry Science**. 6:103-105, 1965.
- BOND, J.H; LEVIT, M.D. Fate of soluble carbohydrate in the colon of rats and man. **J. Clin Invest**. 57:1158-1164. 1976.
- BORGES, A. Vacinas: método natural de proteção para Coccidiose. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA. 2000, Santa Maria, RS. Anais eletrônicos... Santa Maria: [s.n.], 2000. Acesso em: 02, Janeiro, 2015. Disponível em: [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais9000\\_borges.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais9000_borges.pdf).
- BOROSKY, J.C. **O uso de ácidos orgânicos e suas particularidades na produção animal**. 2012. Disponível em: <<https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/acidos-organicos-producao-animal-t36978.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- BUCHON, N.; BRODERICK, N.A.; CHAKRABARTI, S., et al. Invasive and indigenous microbiota impact intestinal stem cell activity through multiple pathways in *Drosophila*. **Genes & Development**, 23:2333-2344, 2009.
- CERISUELO, A.; MARIN, C.; SANCHEZ-VIZCAINO, F., et al.. The impact of a specific blend of essential oil components and sodium butyrate in feed on growth performance and *Salmonella* counts in experimentally challenged broilers. **Poultry Science** 93: 599-606, 2014.
- CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D.A; LIPMAN, L.J.A., et al. Effect os organic acids indrinking water for Young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological charges. **Poultry Science**, v. 83, p. 330-334.2004.
- COATES, M.E., GUSTAFSSON, B.E. The germ-free animal in biomedical research. London:Laboratory Animals Ltd., 1984. In: MACARI, M.; LUNEDO R.; PEDROSO, A.A. **Microbiota intestinal das aves**. 2014. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Adriana\\_Pedroso/publication/265087556\\_Microbiota\\_intestinal\\_de\\_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Adriana_Pedroso/publication/265087556_Microbiota_intestinal_de_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf)>. Acesso em: nov. 2017.

- DAI, D.; NANTHKUMAR, N.N.; NEWBURG, D.S., et al. Role of Oligosaccharides and Glycoconjugates in Intestinal Host Defense. 2000. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.30, p. 23-33.
- DIBNER, J.J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453-463, 2002.
- DIONÍZIO, M.A. Microbiota intestinal do neonato. In: **Anais**. Conferência Apinco 2007 de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas, SP, p. 329-42, 2007.
- EL AIDY, S.; VAN BAARLEN, P.; DERRIEN, M., et al. Temporal and spatial interplay of microbiota and intestinal mucosa drive establishment of immune homeostasis in conventionalized mice. *Mucosal Immunology*, 5:567-579, 2012.
- FOX, J.G. The mouse in biomedical research. 2nd ed., New York:Academic Press, Amsterdam, 2007. In: MACARI, M.; LUNEDO R.; PEDROSO, A.A. **Microbiota intestinal das aves**. 2014. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Adriana\\_Pedroso/publication/265087556\\_Microbiota\\_intestinal\\_de\\_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Adriana_Pedroso/publication/265087556_Microbiota_intestinal_de_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf)>. Acesso em: nov. 2017.
- FUJIMURA, K.E.; SLUSHER, N.A.; CABANA, M.D., et al. Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Review of Antiinfective Therapy*, 8:435-454, 2010.
- FURLAN, R. Anatomia e Fisiologia. In: **Doença das Aves**. Editores: Berchieri Jr. A., Macari, M. Facta, Campinas. p. 15-28. 2000.
- FURLAN, R.L. Aspectos fisiológicos da utilização de probióticos e prebióticos visando à saúde intestinal. Memórias Associação de Médicos Veterinários Especialistas em Avicultura del Ecuador. **AMEVEA-E**, Quito, 2010.
- FRANCO, L.G. **Medidas adotadas na Nutrição Animal visando à saúde intestinal**. 2010. Nutrition for Tomorrow. Disponível em: <http://s101599.gridserver.com/medidas-adotadas-na-nutricao-animal-visando-asaude-intestinal/>. Acesso em: 30/01/2018.
- FREITAS, B.C.F., BAIÃO, N.C., NUNES, I.J. 2001. Fisiologia digestiva do frango de corte nos primeiros dias de vida: digestão da gordura. *Cad Téc Vet Zootec*, Belo Horizonte: FEP MVZ. 34:7-13.
- GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S., et al. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, n. 3, p. 499-511, 2006.
- GASKINS, H.R. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. (Ed.) **Swine Nutrition**. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 585-608.
- GERRITSEN, J.; SMIDT, H.; RIJKERS, G.T., et al. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of disease: the impact of probiotics. *Genes Nutrition*, 6:209-240, 2011.

- GUARNER, F. Enteric flora in health and disease. *Digestion*, v.73, n.1, p.5-12, 2006.
- GUILLOTEAU, P.; SAVARY, G.; JAQUELIN-PEYRAULT, Y., et al. Dietary sodium butyrate supplementation increases digestibility and pancreatic secretion in young milk-fed calves. *J. Dairy. Sci.* 93: 5842-5850, 2010a.
- GUILLOTEAU, P; MARTIN, L; EECKHAUT, V., et al. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutr Res Rev*; 23: 366-384, 2010b.
- HAFEZ, H.M. Doenças entéricas das aves com atenção especial ao *Clostridium perfringens*. In: X Simpósio Brasil Sul de Avicultura e I Brasil Sul Poultry Fair, 2009, Chapecó. **Anais...**p. 32-44.
- HENRIQUE, A.P.F.; FARIA, D.E.; FRANZOLIN, R., et al. Efeito de ácido orgânico, probiótico e antibiótico sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. Botucatu/SP. **Anais da XXXV Reunião da SBZ – 27 a 31 de Julho de 1998 – Botucatu/SP.** CD room. 1998.
- HU, Z.; GUO, Y. Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132: 240-249, 2007.
- HUME, M.E.; CORRIER, D.E.; IVIE, G.W., et al. Metabolism of [14 C] propionic acid in broiler chicks. **Poultry Science.** 72:786-793, 1993.
- HUYGHEBAERT, G; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal.* 187, 182-188.
- ITO N.M.K.; MIYAJI C.I.; LIMA E.A., et al. 2004. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: Mendes A. A. Nääs I. A. Macari M. *Produção de Frangos de Corte (Campinas: FACTA).* p. 205-260.
- ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; OKABAYASHI, S.M. Saúde intestinal em frangos de corte. **Aviagen Brasil.** 2007. Disponível em: Acesso em: 30 de janeiro de 2018.
- JEURISSEN, S.H.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J.D., et al. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Current Issues Intestinal Microbiology**, Norfolk, v. 3, p.1–14, 2002.
- JOHNSON, L.R. 1979. Regulation of gastrointestinal mucosal growth. *World J Surg.* 3:477-486.
- KAWAZOE U. **Coccidiose In Doença das Aves**; Campinas, FACTA, 2000:p391-405.
- KINUGASA, T.; SAKAGUCHI, T.; GU, X., et al. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators. *Gastroenterology*, v.118, n.6, p. 1001-1011.
- KORUDA, M.J.; ROLENDALLI, R.H.; BLISS, D.Z., et al. Parenteral nutrition supplemented with shortchain fatty acids: effect on the smallbowel mucosa in normal rats. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, p. 685-689, 1990.

- KOZAKOVA, H.; KOLINSKA, J.; LOJDA, Z., et al. Effect of bacterial monoassociation on brush-border enzyme activities in ex-germfree piglets: comparison of commensal and pathogenic *Escherichia coli* strains. *Microbes and Infection*, 8:2629-2639, 2006.
- LANA, G.R.Q.; **Avicultura**. São Paulo: Rural, 2000.
- LEANDRO, N.S.M.; OLIVEIRA, A.S.C.; CAFÉ, M.B., et al. Efeito do prebiótico e do ácido butírico in ovo sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes da ração e biometria do trato gastrointestinal de pintos submetidos ao jejum. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 4, p. 806-816, 2010.
- LEESON, S.; NAMKUNG, H.; ANTONGIOVANNI, M. et al. Effect of butyric acid on the performance and the carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p.1418-1422, 2005.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.A.; COX, M.M. **Principles of Biochemistry**. Worth Publishers, INC. New York. United States. 1993.
- MACARI, M.; LUNEDO R.; PEDROSO, A.A. **Microbiota intestinal das aves**. 2014. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Adriana\\_Pedroso/publication/265087556\\_Microbiota\\_intestinal\\_de\\_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Adriana_Pedroso/publication/265087556_Microbiota_intestinal_de_aves/links/53fe3d2e0cf21edafd150b0f/Microbiota-intestinal-de-aves.pdf)>. Acesso em: nov. 2017.
- MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A., et al. Emprego de uma mistura de ácido fumárico, láctico, cítrico e ascóbio em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.
- MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. 2008. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. Pág. 113-120. In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzales, E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP.
- MARTINS, S.S. Avicultura de corte: situações e perspectivas em maio de 2005. **Informações Econômicas**, v.35, n.7, São Paulo: IEA, 2005, pp. 57-59.
- McBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: A review. **J. Anim. Sci.** 68:2997–3010.
- McCARTNEY, E. O Banimento de Antibióticos Promotores de Crescimento na UE – 24 Implicações Globais para a Nutrição Animal. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE 25 AVICULTURA, 2008, Chapecó – SC. **Anais...** Chapecó: [s.n.], 2008. p.13-33.
- McDOUGALD, L.R. **Disease of Poultry**, Section IV, Parasitic disease, Chapter 29, Coccidiosis, p. 974-991 – 2003.
- McMULLIN, P. Produção avícola sem antibióticos: riscos potenciais de contaminação cruzada e detecção de resíduos. In: **Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Santos. **Anais...**Santos: Facta, 2004. v. 2, p. 219-226.

- MENDES, A.A. **Panorama da avicultura nacional e perspectivas do setor**. Associação Brasileira de Proteína Animal/ABPA, Sanidade Avícola – Fortaleza Nacional, Brasília, 2014.
- MONTEIRO, D.P. **Ácidos orgânicos em dietas de leitões**. *Porkworld*, v.4, n.21, p. 48-51, 2004.
- MOOG, F. 1981. "The lining of the small intestine." *Sci Am* 245(5): 154-158, 160, 162.
- MOQUET, P.C.A.; ONRUST, L.; VAN IMMERSEEL, F., et al. 2016. Importance of release location on the mode of action of butyrate derivatives in the avian gastrointestinal tract. *World's Poultry Science Journal*, Vol. 72, 2016.
- MURAROLLI, V.D.A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em nutrição e produção animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 101 p.2008.
- OECD/FAO (2017), OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026, OECD Publishing, Paris. [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2017-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en).
- ONRUST, L.; DUCATELLE, R.; VAN DRIESSCHE, K., et al. Steering endogenous butyrate production in the intestinal tract of broilers as a tool to improve gut health. **Front. Vet. Sci.** 2: 75, 2015.
- PARTANEN, K.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v.12, n.1, p. 117-145, 1999.
- PENZ JR, A.M. O futuro da nutrição avícola. 2017. <https://avicultura.info/pt-br/futuro-da-nutricao-avicola-mario-penz/> acesso em 30/01/18.
- PICKLER, L. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de 10 corte desafiados com *Salmonella enteritidis* e Minnesota e tratados com ácidos 11 orgânicos. **Revista Veterinária Brasileira**, v.32, n.1, p.27-36, 2012.
- PIVA, A.; GRILL, E.; FABBRI, L. et al.. Free versus microencapsulated organic acids in medicated or not medicated diet for piglets. **Livestock Science**, v. 108, p. 214-217, 2007.
- PORTERJÚNIOR, R.R.E. Bacterial Enteritides of Poultry. **Poultry Science**, Champaign , v.77, n. 8, p. 1159–1165, 1998.
- QAISRANI, S.N.; VAN KRIMPEN, R.P; KWAKKEL, M.W., et al. Diet structure, butyric acid, and fermentable carbohydrates influence growth performance, gut morphology, and cecal fermentation characteristics in broilers. **Poult. Sci.** 94: 2152-2164, 2015.
- RAFACZ-LIVINGSTONE, K. A.; PARSONS, C. M.; JUNGKT, R. A.. The effects of various organic acids on phytate phosphorus utilization in chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p.1356-1362, 2005.
- RICKE, S.C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.

- RODRIGUEZ-PALENZUELA, P. Los ácidos orgânicos como agentes antimicrobianos. In: XVI CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA: Avances in Nutrición y Alimentación Animal, 16., 2000, Barcelona. Proceedings... Barcelona: 2000. p.155-167.
- RUSSEL, J.B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 363-370, 1992.
- RUTZ, F.; ROLL, V.F.B.; XAVIER, E. G., et al. Fisiologia da digestão e da absorção em aves. In: **Anais**. XVI Simpósio Brasil Sul de Avicultura e VII Brasil Sul Poultry Fair, v. 1, p. 58-71, 2015.
- SANSONETTI, P.J. 2006. The innate signaling of dangers and the dangers of innate signaling. **Nature Immunology**, v.7, p.1237-1242, 2006.
- SANTOS, I.I.; POLI, A.; PADILHA, M.T.S. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum Animal Sciences** 2004; 26(1):29-33.
- SAS INSTITUTE. Software and services: system for Windows, version 8.0 software Cary, 2002.
- SENGUPTA, S.; MUIR, J.G.; GIBSON, P. R. Does butyrate protect from colorectal cancer? **J. Gastroenterol. Hepatol.** 21:209-18. 2006.
- SHIRLEY, M.W.; IVENS, A.; GRUBER, A., et al. The *Eimeria* genome projects: a sequence of events. *Trends Parasitol.* 2004 May; 20(5):199-201.
- SHIRLEY, M.W.; SMITH, A.L.; BLAKE, D.P. Challenges in the successful control of the avian coccidian. **Vaccine** 2007; 25(30):5540-5547.
- SIKANDAR, A.; ZANEB, H.; YOUNUS, M., et al. Effect of sodium butyrate on performance, immune status, microarchitecture of small intestinal mucosa and lymphoid organs in broiler chickens. **AJAS**. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, v. 30, n. 5, p. 690-9, 2017.
- SMITH, K.; McCOY, K.D.; MACPHERSON, A.J. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. **Seminars in Immunology**, 19:59-69, 2007.
- SNOW, J.L.; BAKER, D.H.; PARSONS, C. Phytase, citric acids and 1- $\alpha$ -hydroxicholecalciferol improve phytate phosphorus utilizations in chicks fed a corn-soybean meal diet. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p. 1187-1192, 2004.
- STANLEY, D.; DENMAN, S. E.; HUGHES, R. J.; GEIER, M. S.; CROWLEY, T. M.; CHEN, H. Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 96, n.5, p. 1361–1369, 2012.
- SVANES, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K., et al. 1982. Restitution of the surface epithelium of the in vitro frog gastric mucosa after damage with hyperosmolar sodium chloride. **Gastroenterology**. 82:1409-1426

- TANNOCK, G.W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. *International Dairy Journal*, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 527-533, 1998.
- TEIXEIRA, A.S. **Alimentos e alimentação dos animais**. 4. ed. Lavras:UFLA/FAEPE, 1997. 402 p.
- TOLEDO, G.S.P.; COSTA, P.T.C.; SILVA, L.P., et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1760-1764, 2007.
- THOMPSON, J.L., HINTON, M., 1997. Antibacterial activity of formic acid and propionic acid in the diet of hens on salmonellas in the crop. **Journal British Poultry Science**, v. 38, n. 1, p. 59-65, 1997.
- TIMBERMONT, L.; LANCKRIET, DEWULF, N., et al. Control of *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. **Avian Pathol.** 39: 117-121., 2010.
- UNI, Z. 2000. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chickens in small intestine. **Br Poult Sci. London**, 41(2):410-415.
- UNI Z. 2006. Early development of small intestinal function. In: Poultry Science Symposium Series. **Avian Gut Function in Health and Disease**. Washington DC, USA. 28:29-4.
- VAN DER WIELEN, P.W.J.J.; KEUZENKAMP, D.A.; LIPMAN, L.J.A. et al. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. **Microbial Ecology**, v.44, n.3, p.286-293, 2002.
- VAN IMMERSEEL, F.; FIEVEZ, V.; DE BUCK, J., et al. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poultry Science** 83:69-74, 2004.
- VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4 (supl.), p. 1097-1104, 2007.
- WITTIG, B.M.; ZEITZ, M. The gut as an organ of immunology. **Int J Colorectal Dis**, v.18, n.3, p.181-187, 2003.
- YANG, Y.; IJI, P.A.; CHOST, M. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.1, p.97-114, 2009.

## **4 OBJETIVO GERAL**

Determinar os efeitos do butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo, morfologia e saúde intestinal e o rendimento de carcaça de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, submetidos ou não a um desafio entérico.

### **4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) de frangos de corte alimentados com dietas contendo butirato de sódio microencapsulado e submetidos ou não a um desafio entérico;
- Avaliar a morfometria intestinal, condição inflamatória da mucosa e a permeabilidade da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo butirato de sódio microencapsulado e submetidos ou não a um desafio entérico;
- Contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae presentes no ceco de frangos de corte alimentados com dietas contendo butirato de sódio microencapsulado e submetidos ou não a um desafio entérico;
- Avaliar o rendimento de carcaça, cortes e deposição de gordura abdominal de frangos de corte alimentados com dietas contendo butirato de sódio microencapsulado e submetidos ou não a um desafio entérico.

## **5. CAPÍTULO 1 - EFEITO DA ADIÇÃO DE BUTIRATO DE SÓDIO MICROENCAPSULADO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E A REGENERAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESAFIO EXPERIMENTAL**

### **RESUMO**

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição dietética de butirato de sódio microencapsulado sobre o desempenho produtivo e a regeneração da mucosa intestinal de frangos de corte submetidos a um modelo de desafio experimental. Foram utilizados 1080 frangos de corte machos da linhagem Cobb Slow com 22 dias de idade. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 (dieta suplementada ou não com butirato de sódio x com ou sem desafio entérico) totalizando 4 tratamentos e 9 repetições de 30 aves por box. Aos 22 dias de idade, as aves dos grupos desafiados receberam inoculação no ingluvío de vacina para coccidiose contendo 20 vezes a dose recomendada pelo fabricante. Dois dias após (24º dia), as aves dos grupos desafiados receberam um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10<sup>9</sup> UFC/ave, aplicado diretamente no ingluvío. A avaliação do ganho de peso, peso médio, consumo de ração e conversão alimentar foi realizada semanalmente. Amostras da mucosa intestinal foram colhidas aos 28 e aos 42 dias de idade após necropsia de duas aves/repetição para avaliação da morfometria intestinal, permeabilidade e condição inflamatória da mucosa intestinal. Nessas mesmas idades foram coletadas amostras de excreta diretamente do ceco de 7 aves/tratamento para contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae. Para cálculo do rendimento de carcaça, cortes e deposição de gordura abdominal, aos 42 dias, foram abatidas 45 aves/tratamento. A análise estatística dos dados foi realizada pelo procedimento GLM e os dados não paramétricos foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis do software SAS. Os resultados mostram que as aves não inoculadas apresentaram menor (P<0,05) contagem de oocistos em relação às aves que foram inoculadas, independentemente do tipo de dieta, basal ou suplementadas com butirato de sódio. Aves desafiadas, independentemente da dieta, apresentaram pior (P<0,05) desempenho produtivo. A contagem de microrganismos da família Enterobacteriaceae e

Clostridium Sulfito Redutores presentes no ceco de frangos de corte mostrou que não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) da dieta ou do desafio entérico sobre a microbiota cecal dos animais avaliados. Os níveis séricos de FITC-d não foram alterados ( $P>0,05$ ) pelo desafio ou dieta, demonstrando não haver diferença na permeabilidade intestinal. As aves que foram desafiadas apresentaram maior taxa de renovação celular por meio do aumento de profundidade e largura da cripta, redução da relação comprimento de vilo:profundidade de cripta do duodeno e menor área de absorção na mucosa do jejuno em relação às aves controle. No íleo, o desdobramento da interação mostrou maior comprimento do vilo das aves que foram desafiadas e suplementadas com butirato de sódio em relação às desafiadas, mas que receberam apenas dieta basal. As aves que não foram desafiadas apresentaram maiores ( $P<0,05$ ) peso de carcaça, de peito e de pernas, independentemente da dieta. A suplementação da dieta de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade com butirato de sódio microencapsulado submetidos ou não a um desafio entérico não influenciou o desempenho produtivo, o rendimento de carcaça e a saúde intestinal das aves.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos, coccidiose, morfometria intestinal, saúde intestinal

## **EFFECT OF THE ADDITION OF MICROENCAPSULATED SODIUM BUTYRATE ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE AND REGENERATION OF INTESTINAL MUCOSA OF BROILERS SUBMITTED TO AN EXPERIMENTAL CHALLENGE MODEL**

### **ABSTRACT**

The objective of this study was to obtain a better understanding on the use of microencapsulated sodium butyrate in the maintenance and regeneration processes of the intestinal mucosa, in view of the enteric challenges found in the production of broilers fed without the use of antibiotic performance enhancers. To assess the effects of sodium butyrate on productive performance, on intestinal morphology and health, and on carcass yield of broiler chickens from 22 to 42 days of age submitted or not to enteric challenge and fed on a diet without the use of AMD were used 1080 male 22-day-old Cobb Slow lineage broilers. The birds were distributed in a completely randomized design in a 2 x 2 factorial scheme (supplemented diet or not with sodium butyrate vs. with or without enteric challenge), totaling 4 treatments and 9 replicates of 30 birds per box. At crop 22 days of age, the birds in the challenged groups received inoculation in the coccidiosis vaccine containing 20 times the dose recommended by the manufacturer. Two days after (24th day), the challenged group birds received an inoculum containing *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) with a calculated concentration of  $10^9$  CFU/bird applied directly in the crop. The evaluation of the average weight, feed intake, weight gain and feed conversion was performed weekly. Samples of the intestinal mucosa were collected at 28 and 42 days of age after necropsy of two birds/replicate (18 birds/treatment) for evaluation of intestinal morphometry, inflammatory mucosal condition, analysis of the proliferative capacity of intestinal cells and the permeability of the mucosal intestinal. At the same ages samples of excreta were collected directly from the cecum of 7 birds/treatment for the count of Clostridium Sulfite Reducers and microorganisms of the family Enterobacteriaceae. For the calculus of the carcass yield, cuts and deposition of abdominal fat, at the 42 days, 45 birds/treatment were slaughtered. The statistical analysis of the data was performed using the GLM procedure and the non-parametric data were analyzed through the Kruskal-Wallis test of the SAS software. Non-inoculated birds showed a lower ( $P<0.05$ ) oocyst count than birds that were inoculated, regardless of the kind of diet, basal or supplemented with sodium butyrate. Birds challenged, regardless of diet, presented worse ( $P<0.05$ ) productive

performance. Serum FITC-d levels were not altered ( $P>0.05$ ) by the challenge or the diet, demonstrating no difference in intestinal permeability. The birds that were challenged had a higher rate of cell renewal by increasing the depth and width of the crypt, reducing the villi length ratio: depth of the duodenum crypt and smaller area of absorption in the mucosa of the jejunum in relation to the control birds. In the ileus, the interaction unfolded showed longer bird lengths that were challenged and supplemented with sodium butyrate compared to the challenged ones, but only received a basal diet. The analysis of the proliferative capacity of intestinal cells and intestinal morphometry are still being performed. The birds that were not challenged presented higher ( $P<0.05$ ) carcass, breast and leg weight loss, regardless of diet. Dietary supplementation of broiler chickens from 22 to 42 days of age with sodium butyrate submitted or not to enteric challenge did not influence the productive performance, carcass yield and intestinal health of the birds.

**Key-words:** Coccidiosis, intestinal health, intestinal morphometry, organic acids

## 5.1. Introdução

Pressões legislativas, barreiras comerciais e a crescente preocupação dos consumidores trouxeram como consequência a redução do uso de antibióticos na forma profilática na alimentação animal. No entanto, a simples remoção desses aditivos das dietas pode gerar consequências negativas, como a queda de desempenho produtivo associado ao aumento da ocorrência de enfermidades clínicas e, conseqüentemente, maior uso de desinfetantes e de antibióticos com fins terapêuticos (CHENG et al., 2014).

As estratégias para reduzir o uso de antibióticos em aves incluem melhoria da biossegurança, vacinação, seleção genética, exclusão competitiva, entre outros (SUN et al., 2005). Entretanto, há a necessidade de proteger ou regenerar a mucosa intestinal frente aos desafios infecciosos decorrentes da alta densidade populacional nos aviários, a reutilização da cama sem o devido tratamento e intervalos curtos entre lotes. A coccidiose é uma das principais enfermidades que acometem as aves nos sistemas de produção mais intensificados e é responsável por grandes perdas econômicas uma vez que afeta o processo de digestão e absorção dos nutrientes, interferindo de forma negativa no resultado zootécnico da criação (ITO et al., 2004). A multiplicação dos oocistos do protozoário do gênero *Eimeria* nas células intestinais resulta na diminuição da área de absorção dos nutrientes e predispõe a infecções por microorganismos patogênicos. Em função das alterações causadas na mucosa intestinal, as aves se tornam susceptíveis a outros desafios intestinais a campo como enterite necrótica causada por *Clostridium* sp. ou infecções por bactérias oportunistas como *E. coli* (ABBAS et al., 2011; TAN et al., 2014).

Os acidificantes podem ser uma alternativa à suspensão do uso dos antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) por serem economicamente viáveis, sustentáveis e multifuncionais. Existem inúmeras hipóteses quanto aos mecanismos de ação dos acidificantes: alteração da microbiota intestinal por ação bactericida ou bacteriostática, redução do pH do papo, melhor atividade de enzimas pancreáticas auxiliando no processo de esvaziamento gástrico, melhor digestibilidade e retenção de nutrientes e principalmente melhorando a qualidade intestinal devido a atividade antimicrobiana (HAYASHI, 2012).

Segundo Dibner e Buttin (2002), a atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos está relacionada com a redução do pH, bem como a capacidade de dissociação de suas carboxilas. Os ácidos orgânicos são solúveis em lipídios quando não dissociados, e nesta forma têm a capacidade de penetrar passivamente na célula microbiana. Uma vez dentro da célula, estes

liberam prótons, resultando em redução do pH intracelular, inibindo a ação de enzimas, levando o microorganismo à morte. Segundo Russel (1992), a ação antimicrobiana também pode ser dependente do acúmulo de ânions no conteúdo intracelular.

O Butirato de Sódio é um sal derivado do ácido butírico que funciona e atua como um acidificante que pode ser utilizado nas formas livre ou protegida (microencapsulada). O composto quando não protegido atuará apenas na parte proximal do trato digestivo enquanto que o butirato de sódio microencapsulado irá atuar na porção posterior do trato gastrointestinal (VAN IMMERSEEL et al., 2004).

Além dos efeitos antimicrobianos específicos de maneira semelhante aos antibióticos, porém sem gerar resistência, os ácidos orgânicos de cadeia curta, a exemplo do ácido butírico, atuam também por redução de pH e apresentam ação especial contra *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Campylobacter spp.*. Além disso, podem ser utilizados como fontes de energia nos processos de recuperação e regeneração da mucosa intestinal, estimulando a multiplicação celular e ampliando a área de superfície intestinal, resultando em aumento do potencial absorptivo de nutrientes (MAIORKA, 2004; DIBNER; BUTTIN, 2002; RICKE, 2003; BOROSKY, 2012; RUSSELL, 1992; PARTANEN; MROZ, 1999; SNOW; BAKER; PARSONS, 2004; LEESON et al. 2005; RAFACZ-LIVINGSTONE et al., 2005)

Portanto, o uso de ácidos orgânicos na cadeia produtiva de aves pode ser uma importante ferramenta para manutenção ou até mesmo melhoria de altos níveis produtivos. Além disso, a qualidade de produtos cárneos de frango de corte pode ser obtida, já que são estimados possíveis controles de microrganismos patogênicos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos do butirato de sódio sobre o desempenho produtivo, sobre a morfologia e saúde intestinal e sobre o rendimento de carcaça de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, submetidos ou não a um desafio entérico e alimentados com dieta sem uso de AMD.

## 5.2. Material e Métodos

O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina onde todos os procedimentos com uso de animais neste trabalho foram submetidos à avaliação e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR - Setor Palotina (Protocolo 24/2017).

Foram utilizados 1080 frangos de corte da linhagem Cobb Slow com 22 dias de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 totalizando 4 tratamentos e 9 repetições de 30 aves por box.

Os tratamentos experimentais consistiram de:

Dieta basal

Dieta basal + desafio entérico

Dieta basal suplementada com Butirato de Sódio

Dieta basal suplementada com Butirato de Sódio + desafio entérico

No período de 1 a 21 dias de idade todas as aves receberam dieta inicial acrescida de anticoccidiano e formulada à base de milho e farelo de soja seguindo as recomendações nutricionais das agroindústrias locais. Ao 21º dia de idade as aves foram individualmente pesadas e redistribuídas para que houvesse uma distribuição homogênea em cada box.

A dieta fornecida às aves nesse período foi a Crescimento II, formulada a base de milho e farelo de soja visando atender as exigências nutricionais das aves de acordo com as recomendações das agroindústrias locais (Tabela 1). As dietas experimentais não continham AMD e anticoccidiano.

O produto comercial a base de Butirato de Sódio utilizado foi o Novyrate® e a dose utilizada foi de 1 kg/ton, seguindo a recomendação do fabricante.

Aos 22 dias de idade, os grupos de aves desafiadas receberam aplicação da vacina comercial Bio-Coccivet R® (Biovet) para coccidiose com as espécies *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*. Previamente à aplicação, foi realizada a esporulação dos oocistos pela injeção de O<sub>2</sub> diretamente em tubos Falcon com a vacina, os quais foram rapidamente lacrados e mantidos em estufa BOD a 28°C durante 48 horas. A vacina foi inoculada diretamente no inglúvio de cada ave na dose de 20 vezes a recomendada pelo fabricante da vacina ( $\pm 80.000$  oocistos esporulados). Dois dias após, um inóculo contendo *Escherichia coli* (ATCC® 8739™) com uma concentração calculada de 10<sup>9</sup> UFC/ave foi preparado e fornecido diretamente no inglúvio de cada ave dos grupos desafiados.

A cada dois dias, foram colhidas fezes frescas depositadas na cama para a contagem de oocistos de *Eimeria* spp por grama de excreta (OPG). A contagem foi realizada pelo método de Gordon & Whitlock (1939).

A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico das aves as quais receberam água e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental. No intervalo do 22º dia até o 42º dia as aves receberam 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

Tabela 1 - Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período de crescimento (22 a 42 dias).

Ingredientes, Kg/T	Ração crescimento	
	Controle	Com Butirato de Sódio
Milho	601,75	600,75
Farelo de soja 46%	307,50	307,50
Óleo Soja degomado	53,00	53,00
Fosfato Bicálcico 20%	11,00	11,00
Sal comum	3,30	3,30
DL-Metionina 88%	4,05	4,05
Bicarbonato Sódio	2,05	2,05
L-Treonina 98%	0,75	0,75
Calcáreo	10,5	10,50
PX Cresc. <sup>1</sup>	3,00	3,00
L-Lisina 54,6%	3,10	3,10
Butirato de sódio <sup>2</sup>	-	1,00
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Valores calculados</b>		
EMet, Kcal/kg	3.226	3.223
PB, %	19,71	19,69
EE, %	8,098	8,076
FB, %	2,542	2,540
Cálcio, %	0,818	0,818
P.Disp. %	0,407	0,407
Lis Dig. %	1,101	1,101
AAS Dig. %	0,839	0,839
Thr Dig. %	0,719	0,719
Trp Dig. %	0,209	0,209
Leuc Dig. %	1,578	1,578
Ile Dig. %	0,749	0,749
Val Dig. %	0,825	0,825
Arg Dig. %	1,214	1,214

<sup>1</sup> Nível por kg de dieta: Vitamina A (KUI/KG 3,000.00); Vitamina D3(KUI/KG 1,000.000); Vitamina E (UI/KG 8,333.33) Vitamina K3 (mg/kg 1,000.00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 800.00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2,166.667); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,400.00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 5,000.00); Acido Pantatênico (mg/kg 5,000.00) Niacina (mg/kg 11,666.667); Ácido Fólico (mg/kg 500.00);

Biotina (mcg/kg 70,000.00); Manganês (ppm 33,333.00); Zinco (ppm 26,666.00); Ferro (ppm 20,000.00); Cobre (ppm 2,666.67); Iodo (ppm 333.33); Selênio (ppm 80.00); Etoxiquina (mg/Kg 22,200.00); Fitase Phyzyme (g/kg 16.667).

<sup>2</sup> Butirato de sódio foi incluído (1kg/ton) em substituição ao milho.

Fonte: Imperatori, 2018.

### **5.2.1. Avaliação do desempenho das aves**

Para o acompanhamento e cálculos do desempenho produtivo foram realizadas avaliações semanais, dos 22 aos 42 dias de idade. As aves foram pesadas, assim como a sobra de ração fornecida, para a avaliação do peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. A conversão alimentar foi corrigida pela mortalidade semanal das aves conforme metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2016).

### **5.2.2. Morfometria intestinal e condição inflamatória da mucosa**

Aos 28 e 42 dias de idade, 2 aves/repetição (18 aves/tratamento) foram sacrificadas e obtidos fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento do duodeno, jejuno, íleo e ceco, os quais foram submetidos a cortes semi-seriados de 5 µm de espessura e corados por hematoxilina e eosina para realização de estudo morfométrico intestinal das imagens (BEČAK, 1976). As imagens dos cortes intestinais foram capturadas por meio da microscopia de luz (objetiva 10x), utilizando-se o sistema analisador de imagens computadorizado (Image Pro-Plus - Versão 5.2 – Média Cibernética). Neste estudo, foram mensurados o comprimento e a largura de 20 vilos e a profundidade e a largura de 20 criptas de cada lâmina. Estas medidas morfométricas foram utilizadas para o cálculo da área da superfície de absorção da mucosa intestinal, através da fórmula proposta por Kisielinski et al. (2002).

Para a análise microscópica do íleo foi realizada a leitura em objetiva de 40 vezes em 10 vilosidades por ave das mesmas lâminas utilizadas para a avaliação morfométrica. Na análise histopatológica, foi determinada a ocorrência e intensidade de alterações associadas ao índice de saúde intestinal: atrofia de vilosidade, fusão de vilosidade, proliferação de enterócito, infiltração inflamatória epitelial, infiltração inflamatória mista na lâmina própria, congestão, necrose e presença de oocistos de *Eimeria spp.*. Na presença da alteração, a intensidade foi classificada em leve, moderada e acentuada.

Amostras do jejuno foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato 0,1 M (pH 7,4). Todos os tecidos foram lavados em solução tampão e fixados em tetróxido de ósmio a 1% durante 1 hora, posteriormente imersas em ácido tânico 1% por mais 1 hora e desidratadas em séries crescentes de etanol. Após a obtenção do ponto crítico de secagem utilizando CO<sub>2</sub>, os fragmentos foram revestidos por íons de ouro e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (modelo TESCAN VEGA3) para avaliar a morfometria da reação observada.

### **5.2.3. Avaliação da permeabilidade da mucosa intestinal**

Para avaliar a permeabilidade da mucosa intestinal foi utilizada a administração oral de Isotiocianato de Dextrano de Fluoresceína (FITC-d) e quantificada a passagem para a corrente sanguínea. Aos 42 dias, FITC-d foi administrado por via oral a 2 aves/repetição. Após 2 horas da administração oral, as aves foram sacrificadas e o sangue foi colhido para determinar a concentração de FITC-d/mL no soro (VICUÑA et al., 2015).

### **5.2.4. Contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae presentes no ceco de frangos de corte**

Aos 28 e 42 dias, foram coletadas amostras de excreta diretamente do ceco de 7 aves/tratamento para contagem de Clostridium Sulfito Redutores e microrganismos da família Enterobacteriaceae. As amostras foram conservadas em gelo e enviadas para contagem no MercoLab Laboratórios Ltda. As contagens foram realizadas de acordo com a ISO (International Organization for Standardization) - ISO 15213 (2003), ISO 21528-2 (2017) e ISO 7218 (2004).

### 5.2.5. Rendimento de carcaça e de cortes comerciais e deposição de gordura abdominal

O rendimento de carcaça e de cortes comerciais (peito, pernas, asa e a % de gordura abdominal) foi determinado aos 42 dias de idade em 5 aves/box (45 aves por tratamento). Previamente, as aves foram identificadas e submetidas ao jejum alimentar por seis horas. Em seguida, foram abatidas por atordoamento por eletronarcose e posterior sangria, sendo na sequência submetidas à escaldagem, depenagem e evisceração de acordo com IN nº 3 de janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2000).

Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes nobres, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele) e asas com pele que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada conforme descrito por Smith (1993). Em seguida, foi pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

### 5.2.6. Análise estatística

Os resultados obtidos no experimento foram tabulados e analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Linear Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (2002, SAS Institute Inc., Cary, NC) e, quando significativas, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelos testes de Tukey a 5%.

As lesões microscópicas da mucosa intestinal do jejuno foram variáveis medidas como escore, o que configura uma ordenação característica de dados ordinais. A regressão logística ordinal utiliza um modelo logit cumulativo que se parece com um modelo de regressão logística binária (Agresti, 2007) separando os escores (dado ordinal no caso deste estudo) dentro de duas categorias: valores de escore mais baixos e mais altos. O modelo geral segue abaixo (MONTGOMERY; PECK; VINING, 2012):

$$\ln \frac{P(y_i \leq k)}{1 - P(y_i \leq k)} = \alpha k + x_i \beta, \quad k = 0, 1, \dots, m$$

onde,

$y_i$  = é a variável resposta (medida como escore);

$i$  = é o vetor  $(1, x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ij})$  das variáveis preditoras  $j$  (dieta, desafio, dieta\*desafio);

$\beta$  = é o vetor  $(\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_l)$  dos parâmetros do modelo representando a mudança esperada na variável resposta  $y$  a partir das variáveis preditoras  $x$ ;

$\alpha_k$  = é o intercepto para o nível de escore  $k$ , onde os resultados são representados por 0, 1, 2, ...,  $m$ .

Para realização do modelo de regressão logística ordinal a pressuposição de probabilidades proporcionais entre os níveis de resposta (escore) foi testada e atendida para todas as variáveis estudadas. A regressão logística ordinal, teste de suas pressuposições e cálculo dos valores de razão de probabilidade foram realizados por meio do PROC LOGISTIC do software SAS (versão 9.1, SAS/2012). Para todos os testes estatísticos, a significância estatística foi considerada ao nível de 5% de probabilidade.

### 5.3. Resultados e discussão

A proposta de provocar desafio entérico às aves deste experimento foi mensurada pela avaliação das consequências geradas pela inoculação de oocistos de *Eimeria* e de *Escherichia coli*. Com relação à 1ª coleta pós-infecção foi possível observar a presença de lesões características de coccidiose, tais como placas esbranquiçadas na mucosa do duodeno até o início do jejuno, lesões típicas de *E. acervulina*. Alguns animais apresentavam diarreia aquosa, nos intestinos havia conteúdo mucoso alaranjado, espessamento da parede intestinal, entre outros sinais característicos de coccidiose, como os encontrados em estudos anteriores (ALLEN e FETTERER, 2002), o que demonstra ter havido a agressão à mucosa intestinal.

As contagens de oocistos foram feitas com intervalos de dois dias, totalizando cinco coletas. Houve interação ( $P < 0,05$ ) entre a dieta e o desafio entérico. Aves não inoculadas apresentaram menor ( $P < 0,05$ ) contagem de oocistos em relação às aves que foram inoculadas, independentemente do tipo de dieta, basal ou suplementadas com butirato de sódio até a 4ª coleta. Na 5ª coleta, observou-se comportamento inverso, ou seja, aves inoculadas apresentaram menor ( $P < 0,05$ ) contagem de oocistos que aves não inoculadas.

Nesse experimento, todas as aves receberam ração acrescida de anticoccidiano de 1 a 21 dias e foram criadas sobre cama reutilizada. A partir dos 22 dias, ambas as dietas foram isentas de anticoccidiano e o grupo desafiado foi inoculado com os oocistos esporulados. Após a inoculação, o grupo desafiado foi liberando oocistos de forma progressiva, até a 4ª coleta,

diminuindo significativamente na 5ª coleta. Já o grupo não inoculado, foi sendo desafiado naturalmente pelos oocistos presentes na cama e como observados na 5ª coleta, ultrapassando a contagem do grupo inoculado.

Esse resultado mostra que o protocolo de desafio entérico utilizado foi eficaz, permitindo a multiplicação dos oocistos, o que contribuiu para a ocorrência de lesões e interferiu no desempenho das aves (Tabelas 03, 04, 05 e 06).

Tabela 02. Contagem de oocistos de *Eimeria* sp. nas excretas de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4	Coleta 5
<b>Dieta</b>					
Basal	3322,22	28866,67	4655,56	11316,67	12650,00
Butirato de sódio	5216,67	34800,00	12227,78	12161,11	9455,56
<b>Desafio</b>					
Controle	0	44,44	327,78	4844,44	14016,67
Desafiadas	8538,89	63622,22	16555,56	18633,33	8088,89
Dieta basal + controle	0 <sup>b</sup>	66,67 <sup>b</sup>	55,56 <sup>b</sup>	811,11 <sup>b</sup>	13.611,11 <sup>a</sup>
Dieta basal + desafio	6.644,44 <sup>a</sup>	57.666,67 <sup>a</sup>	9.255,56 <sup>a</sup>	21.822,22 <sup>a</sup>	11.688,89 <sup>b</sup>
Butirato de sódio + controle	0 <sup>b</sup>	22,22 <sup>b</sup>	600 <sup>b</sup>	8877,78 <sup>b</sup>	14422,22 <sup>a</sup>
Butirato de sódio + desafio	10.433,33 <sup>a</sup>	69.577,78 <sup>a</sup>	23.855,56 <sup>a</sup>	15.444,44 <sup>a</sup>	4.488,89 <sup>b</sup>
<b>CV, %</b>					
Dieta	0,8129	0,8685	0,2165	0,3177	0,8246
Desafio	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,0013
Dieta x Desafio	0,0001	0,0001	0,0001	0,0013	0,0156

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis.

Coletas de 2 em 2 dias após a infecção experimental

Fonte: Imperatori, 2018.

Os grupos de aves desafiadas eliminaram maior quantidade de oocistos por gramas (OOPG) de fezes nas primeiras coletas. Estes resultados estão em concordância com os achados de Kawazoe (2000) que avaliou a infecção por *Eimeria tenella* a qual se caracteriza por sangramento e espessamento da parede cecal no quinto e no sexto dia após a infecção, com posterior eliminação de oocistos nas fezes. Uma possível explicação para a inversão na contagem média de OPG na 5ª coleta (encontradas maiores médias para os grupos não desafiados) pode estar ligada ao fato de que, após a remoção do anticoccidiano da dieta, as aves dos grupos desafiados apresentaram desenvolvimento de proteção contra os oocistos de forma mais rápida do que os grupos não desafiados para coccidiose.

Na 1ª semana pós-infecção, aves desafiadas apresentaram menor ( $P<0,05$ ) peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e pior ( $P<0,05$ ) conversão alimentar, independentemente da dieta (Tabela 03). Estes resultados podem ser devido à espoliação que os microrganismos causam na mucosa intestinal dos animais. Essa espoliação leva à desidratação e pior aproveitamento dos nutrientes da dieta, com reflexos na piora da conversão alimentar.

Tabela 03. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 22 a 28 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta				
Basal	1526,86	704,07	1090,07	1,549
Butirato de sódio	1516,68	700,16	1098,69	1,571
Desafio				
Controle	1553,91 <sup>a</sup>	731,20 <sup>a</sup>	1123,48 <sup>a</sup>	1,537 <sup>a</sup>
Desafiadas	1489,63 <sup>b</sup>	673,04 <sup>b</sup>	1065,28 <sup>b</sup>	1,583 <sup>b</sup>
Dieta basal + controle	1564,25	736,07	1123,63	1,527
Dieta basal + desafio	1489,48	672,07	1056,52	1,572
Butirato de sódio + controle	1543,58	726,32	1123,33	1,547
Butirato de sódio + desafio	1489,79	674,01	1074,04	1,594
CV, %	2,35	3,39	3,25	2,39
Dieta	0,4002	0,6258	0,4732	0,0980
Desafio	0,0001	0,0001	0,0001	0,0008
Dieta x Desafio	0,3861	0,4665	0,4582	0,9540

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Na semana seguinte (28 a 35 dias), observou-se ainda menor peso vivo das aves desafiadas. Os demais índices produtivos avaliados não foram afetados ( $P>0,05$ ) pelo desafio entérico (Tabela 04). Neste estudo, as variáveis de desempenho aos 35 dias não apresentaram diferenças ( $P>0,05$ ) com a utilização ou não de ácidos orgânicos na dieta, corroborando os resultados obtidos por Garcia et al. (2000) que, estudando a ação e o desempenho de dois ácidos orgânicos na ração de frangos de corte, também não encontraram diferenças entre os grupos tratados. Porém, Salazar (2006) verificou que o resultado da conversão alimentar nos grupos que não receberam ácidos orgânicos foi pior ( $P<0,05$ ). A diferença nos resultados encontrados nos trabalhos citados pode ser atribuída às diferentes condições de manejo, qualidade de rações e presença ou não de desafio microbiológico e de campo realizado em cada um deles. Propriamente a composição e as concentrações dos ácidos orgânicos avaliados foram diferentes

entre um estudo e outro. Todos esses fatores, de certa forma, justificam a ampla margem de variação nos resultados estudados.

Tabela 04. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 28 a 35 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
Dieta				
Basal	2230,43	552,02	1212,87	2,218
Butirato de sódio	2225,68	554,28	1213,57	2,213
Desafio				
Controle	2280,25 <sup>a</sup>	566,62	1225,02	2,185
Desafiadas	2175,87 <sup>b</sup>	539,69	1201,42	2,246
Dieta basal + controle	2279,93	552,59	1222,64	2,242
Dieta basal + desafio	2180,94	551,46	1203,11	2,194
Butirato de sódio + controle	2280,57	580,65	1227,40	2,128
Butirato de sódio + desafio	2170,79	527,91	1199,73	2,298
CV, %	4,06	12,96	5,74	8,58
Dieta	0,8756	0,9252	0,9763	0,9445
Desafio	0,0015	0,2682	0,3173	0,3440
Dieta x Desafio	0,8590	0,2884	0,8621	0,0946

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Na última semana de criação (35 a 42 dias), observou-se resultado semelhante a semana anterior (Tabela 05). Aves que foram submetidas ao desafio apresentaram menor peso vivo. Este resultado se manteve ao avaliar o período total de realização do experimento, onde apenas o peso vivo foi afetado ( $P < 0,05$ ) pelo desafio entérico (Tabela 06).

Lotes de aves de alto rendimento, acometidos por desafios entéricos, tendem a apresentar redução no desempenho zootécnico, pois o comprometimento dos tecidos gastrintestinais gera efeito negativo significativo sobre a capacidade absorptiva de nutrientes, especialmente para animais de ciclo curto como é o caso do frango de corte.

Calaça (2009) observou piora no desempenho produtivo para os grupos de aves que foram desafiadas contra *Salmonella enteritidis* e *Eimeria tenella* em comparação a grupos de aves não desafiadas e alimentadas ou não com ácidos orgânicos corroborando com os resultados deste estudo. Zou et al. (2010), não observaram resultados favoráveis para a variável ganho de peso, respectivamente em aves e suínos que receberam butirato de sódio em suas dietas. Jerzsele et al. (2012), ao avaliarem a eficácia do butirato de sódio protegido frente a um quadro de enterite necrótica (*Clostridium perfringens*) obtiveram resultados de ganho de peso corporal

( $P < 0,05$ ) favoráveis ao grupo de aves que recebeu dieta contendo butirato de sódio e também para o grupo que recebeu butirato de sódio + óleo essencial.

Tabela 05. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 35 a 42 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
<b>Dieta</b>				
Basal	2940,04	708,95	1325,17	1,879
Butirato de sódio	2921,27	689,11	1311,14	1,883
<b>Desafio</b>				
Controle	2989,18 <sup>a</sup>	699,80	1334,92	1,886
Desafiadas	2872,13 <sup>b</sup>	698,26	1301,39	1,877
<hr/>				
Dieta basal + controle	3002,15	726,45	1341,89	1,853
Dieta basal + desafio	2877,93	691,44	1308,45	1,905
Butirato de sódio + controle	2976,20	673,14	1327,95	1,923
Butirato de sódio + desafio	2866,34	705,07	1294,33	1,848
<hr/>				
CV, %	4,77	11,77	6,40	5,93
Dieta	0,6896	0,4749	0,6211	0,8595
Desafio	0,0172	0,9556	0,2417	0,7647
Dieta x Desafio	0,8784	0,2313	0,9976	0,0999

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Tabela 06. Desempenho produtivo de frangos de corte com idade entre 22 a 42 dias, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Peso vivo, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
<b>Dieta</b>				
Basal	2940,04	1965,04	3628,12	1,849
Butirato de sódio	2921,27	1943,56	3623,39	1,869
<b>Desafio</b>				
Controle	2989,18 <sup>a</sup>	1997,61	3683,42	1,848
Desafiadas	2872,13 <sup>b</sup>	1910,98	3568,09	1,870
<hr/>				
Dieta basal + controle	3002,15	2015,11	3688,16	1,833
Dieta basal + desafio	2877,93	1914,97	3568,07	1,866
Butirato de sódio + controle	2976,20	1980,11	3678,69	1,863
Butirato de sódio + desafio	2866,34	1907,00	3568,10	1,875
<hr/>				
CV, %	4,77	10,98	6,40	11,77
Dieta	0,6896	0,7762	0,6211	0,4749
Desafio	0,0172	0,8877	0,2417	0,9556
Dieta x Desafio	0,8784	0,6509	0,9976	0,2313

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Em concordância com os estudos mencionados, mesmo que tenham sido realizados com diferentes protocolos de desafios entéricos, se reforça a necessidade de manter alto grau de biossegurança às granjas de produção avícola, pois o acometimento do TGI e, conseqüentemente, a redução da capacidade de absorção de nutrientes provoca grande dificuldade de recuperação do lote, podendo acumular prejuízos produtivos.

O pior desempenho das aves desafiadas, provavelmente, é uma resposta ao processo de reparação da barreira epitelial frente ao dano causado pela multiplicação intracelular do protozoário. Além disso, o desafio sanitário que induz a resposta imune, normalmente ocasiona redução no consumo de alimento e diversas mudanças metabólicas, como o catabolismo muscular a fim de obter substratos necessários para o sistema imune e alterações no metabolismo hepático levando a redução da disponibilidade de determinados nutrientes para o crescimento e desenvolvimento.

É importante considerar ainda que, quando a mucosa sofre processo de agressão, a reposição celular se faz à custa de consumo de nutrientes, os quais são provenientes das reservas energéticas do organismo da ave e da ração ingerida. McBride e Kelly (1990) estimaram que a manutenção do epitélio intestinal e estruturas anexas de suporte têm custo de 20% da energia bruta consumida pelo animal.

Para a contagem de microrganismos da família Enterobacteriaceae e Clostridium Sulfito Redutores no ceco de frangos de corte não houve efeito ( $P>0,05$ ) da dieta ou do desafio entérico (Tabela 07).

Zou et al. (2010) avaliaram o uso de butirato de sódio protegido em dietas de frangos e sobre a concentração de microrganismos na região cecal. Os autores observaram que o ácido orgânico protegido resultou em menores concentrações de *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* em comparação ao grupo controle. Estes resultados divergem do que foi encontrado neste estudo. O fato de não ter sido observada diferença significativa pode ter relação com o protocolo utilizado devido ao tipo e ao grau de desafio que os animais foram expostos e/ou a dose/concentração utilizada do aditivo alimentar.

As infecções naturais por *Eimeria* sp., atuam como fatores condicionantes de enterite necrótica pela destruição maciça da mucosa. Os tecidos intestinais danificados e as mudanças nas funções do trato intestinal causadas por ela podem desestruturar as barreiras naturais de defesa e permitir a colonização por vários agentes patogênicos, tais como *Clostridium perfringens* ou *Salmonella* sp (COLLIER et al., 2008).

Tabela 07. Contagem (UFC\*) de microrganismos da família Enterobacteriaceae e Clostridium Sulfito Redutores presentes no ceco de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Família Enterobacteriaceae	Clostridium Sulfito Redutores
28 dias		
Dieta		
Basal	$5,4 \times 10^7$	$2,7 \times 10^6$
Butirato de sódio	$2,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^6$
Desafio		
Controle	$2,5 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$
Desafiadas	$5,4 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$
Dieta basal + controle	$2,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^6$
Dieta basal + desafio	$8,4 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$
Butirato de sódio + controle	$2,6 \times 10^7$	$7,8 \times 10^5$
Butirato de sódio + desafio	$2,4 \times 10^7$	$2,1 \times 10^6$
CV, %	57,66	58,11
Dieta	0,3118	0,2506
Desafio	0,4761	0,5200
Dieta x Desafio	0,5363	0,6128
42 dias		
Dieta		
Basal	$5,3 \times 10^7$	$5,9 \times 10^5$
Butirato de sódio	$4,1 \times 10^7$	$4,4 \times 10^5$
Desafio		
Controle	$3,5 \times 10^7$	$2,0 \times 10^5$
Desafiadas	$5,8 \times 10^7$	$8,4 \times 10^5$
Dieta basal + controle	$3,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^5$
Dieta basal + desafio	$7,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$
Butirato de sódio + controle	$3,6 \times 10^7$	$2,5 \times 10^5$
Butirato de sódio + desafio	$4,6 \times 10^7$	$6,4 \times 10^5$
CV, %	55,24	57,92
Dieta	0,2232	0,7828
Desafio	0,7827	0,2322
Dieta x Desafio	0,2384	0,5769

\* UFC: Unidades formadoras de colônias

Fonte: Imperatori, 2018.

Em condições de campo, a coccidiose pode ter um impacto ainda maior sobre contagem de enterobactérias e de lesões na mucosa intestinal afetando o desempenho das aves devido à existência de outros fatores estressantes. Embora alguns efeitos positivos dos ácidos orgânicos sobre a regeneração intestinal já tenham sido demonstrados mesmo em criações comerciais, há ainda grande desconhecimento dos mecanismos de ação destes produtos, o que influencia nos resultados e eficiência das diversas pesquisas realizadas com esses aditivos.

Para avaliação dos níveis séricos de FITC-d não houve efeito ( $P>0,05$ ) entre os protocolos avaliados aos 42 dias de idade. Apesar do prejuízo sobre desempenho zootécnico provocado pela ocorrência de coccidiose nos grupos desafiados, os resultados da concentração sanguínea de FITC-d não diferiam ao final do experimento entre os diferentes grupos. Devido à taxa de renovação celular de frangos de corte ser alta (24 a 96 horas), estes resultados podem ser justificados pelo fato de que os animais tiveram tempo suficiente de recuperação entre o momento do desafio inicial e o momento de avaliação de FITC-d.

O FITC-d normalmente não é absorvido para a corrente sanguínea quando a mucosa intestinal está íntegra e por isso representa uma importante barreira protetiva. No entanto, quando há perturbação das condições normais do TGI, a exemplo da ação de agentes agressores, ocorrem danos/lesões ao epitélio que geram perturbações às junções celulares (*tight junctions*). Conseqüentemente, esse “afrouxamento” das ligações celulares aumenta a permeabilidade intestinal e isso é prejudicial ao organismo, visto que torna possível a infiltração de microrganismos à corrente sanguínea possibilitando ocorrer, com maior probabilidade, casos de infecções por agentes oportunistas.

Em protocolos experimentais que avaliaram o efeito imunossupressor da administração de dexametasona a frangos de corte, os pesquisadores puderam observar que houve dano ao tecido intestinal através da percepção de maiores concentrações séricas de FITC-d em indivíduos dos grupos tratados com dexametasona em comparação aos grupos controle (YAN et al., 2009; TELLEZ et al., 2014; VICUÑA et al. 2015).

Tabela 08. Níveis séricos de FITC-d\* de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	FITC-d ( $\mu\text{g/mL}$ )
Dieta	
Basal	0,279
Butirato de sódio	0,317
Desafio	
Controle	0,327
Desafiadas	0,276
Dieta basal + controle	0,315
Dieta basal + desafio	0,250
Butirato de sódio + controle	0,335
Butirato de sódio + desafio	0,300
CV, %	63,81
Dieta	0,449
Desafio	0,282
Dieta x Desafio	0,745

Fonte: Imperatori, 2018.

Os resultados referentes à morfometria da mucosa do duodeno, jejuno e íleo estão apresentados nas Tabelas 09,10 e 11.

Esses resultados reforçam os achados anteriores nos quais se observou efeito apenas para o desafio, independentemente da dieta. Aos 28 dias de idade, houve efeito ( $P < 0,05$ ) do desafio experimental sobre a profundidade de cripta, largura de cripta, relação vilos:cripta da mucosa do duodeno (Tabela 9). O desafio experimental resultou em aumento da profundidade e largura da cripta e, conseqüentemente, redução da relação vilos:cripta pelo aumento da taxa de proliferação de novas células que ocorre na cripta em situações de intenso reparo tecidual. Isso é explicado pela expoliação e atrofia de vilosidades. No jejuno (Tabela 10), observou-se, aos 28 dias, resultado semelhante, aumento na profundidade de cripta, redução da relação V:Ce da área de absorção na mucosa das aves desafiadas em relação às aves controle. No Íleo (Tabela 11), aos 28 dias de idade, observou-se maior ( $P < 0,05$ ) largura da cripta das aves desafiadas em relação às não desafiadas e interação significativa da dieta e do desafio para o comprimento do vilos. No desdobramento da interação, observou-se maior ( $P < 0,05$ ) comprimento do vilos das aves que foram desafiadas e suplementadas com butirato de sódio em relação às desafiadas, mas que receberam apenas dieta basal.

Aos 42 dias de idade, no entanto, observou-se que houve uma recuperação de mucosa independentemente de dieta e desafio. Observou-se apenas maior ( $P < 0,05$ ) espessura da camada muscular do íleo das aves que não receberam desafio experimental em relação às desafiadas. O reparo da mucosa intestinal ou reconstituição é definido como sendo um processo pelo qual a continuidade das células epiteliais é restabelecida rapidamente após uma injúria. Esse processo é afetado pela migração de células epiteliais viáveis de áreas adjacentes logo abaixo da área lesada (SVANES et al., 1982). O processo de reconstituição inicia-se rapidamente após a lesão (5 a 30 minutos), sendo dependente da secreção de muco sobre a área injuriada. Após a perda de grandes áreas na mucosa intestinal, é estimulado o aparecimento de mecanismos moleculares de adaptação para o reparo da mucosa intestinal. O epitélio remanescente torna-se hiperplásico com maior altura do vilos e profundidade da cripta (DOWLING, 1992; MAIORKA et al., 2008).

O reparo da mucosa intestinal pode começar logo após a injúria (cerca de 5 minutos após). Além disso, pelo fato de que os resultados estatísticos com 42 dias de idade não apresentaram efeito significativo, é possível entender que os animais desafiados tiveram tempo suficiente para, ao menos, apresentarem resultados similares aos animais não desafiados mesmo que tenham apresentando resultado parcial significativamente reduzido para a área de absorção no jejuno aos 28 dias de idade.

Tabela 09. Morfometria da mucosa intestinal do duodeno de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	CVilo, µm	LVilo, µm	PCripta, µm	LCripta, µm	CV:PC	Área de absorção, µm <sup>2</sup>	Camada Muscular, µm
28 dias							
Dieta							
Basal	1174,79	187,74	148,94	52,88	8,01	16,14	199,32
Butirato	1124,65	175,65	152,29	53,19	7,43	15,29	191,70
Desafio							
Controle	1178,08	179,14	142,93 <sup>b</sup>	51,65 <sup>b</sup>	8,44 <sup>a</sup>	16,49	197,36
Desafiadas	1122,98	183,76	157,98 <sup>a</sup>	54,28 <sup>a</sup>	7,06 <sup>b</sup>	15,00	193,65
DB + controle	1194,51	190,47	140,35	51,34	8,64	16,80	201,15
DB + desafio	1155,07	185,16	158,04	54,42	7,38	15,48	197,48
BS + controle	1160,68	167,10	145,67	51,98	8,23	16,17	193,35
BS + desafio	1095,48	182,49	157,93	54,17	6,79	14,58	190,36
Análise de variância							
CV, %	22,54	40,14	18,02	10,48	26,75	24,92	24,07
Dieta	0,4419	0,4558	0,6864	0,8826	0,2969	0,4046	0,4985
Desafio	0,3893	0,7724	0,0225	0,0463	0,0066	0,1165	0,7623
Dieta x Desafio	0,8517	0,5531	0,6737	0,7312	0,8550	0,8843	0,9751
42 dias							
Dieta							
Basal	2210,22	111,14	350,68	53,22	19,75	36,33	300,59
Butirato	2362,99	109,95	331,01	52,89	19,82	36,53	317,90
Desafio							
Controle	2360,99	115,90	338,22	52,61	19,96	37,54	328,31
Desafiadas	2225,16	105,82	343,01	53,44	19,64	35,52	293,50
DB + controle	2247,18	115,09	356,56	54,03	20,58	37,44	316,72
DB + desafio	2187,47	108,27	347,06	52,68	19,23	35,65	290,67
BS + controle	2443,76	116,62	324,89	51,47	19,51	37,60	336,74
BS + desafio	2274,15	102,45	337,74	54,46	20,16	35,35	297,17
Análise de variância							
CV, %	16,74	22,13	20,85	10,68	31,93	21,21	22,30
Dieta	0,245	0,796	0,363	0,832	0,970	0,977	0,543
Desafio	0,345	0,211	0,940	0,657	0,861	0,409	0,137
Dieta x Desafio	0,649	0,658	0,619	0,244	0,618	0,925	0,756

CVilo: comprimento de vilosidade, LVilo: largura de vilosidade, PCripta: profundidade de cripta, LCripta: largura de cripta, CV:PC: relação comprimento de vilosidade:profundidade de cripta.

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

DB: dieta basal, BS: Butirato de Sódio

Comprimento do vilosidade (CVilo), largura do vilosidade (LVilo), profundidade de cripta (PCripta), largura da cripta (LCripta), relação comprimento do vilosidade: profundidade da cripta (CV:PC)

Fonte: Imperatori, 2018.

Tabela 10. Morfometria da mucosa intestinal do jejuno de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	CVilo, µm	LVilo, µm	PCripta, µm	LCripta, µm	CV:CP	Área de absorção, µm <sup>2</sup>	Camada Muscular, µm
28 dias							
Dieta							
Basal	855,45	113,39	102,19	45,97	8,48	15,84	177,82
Butirato	824,46	117,37	98,73	45,43	8,58	14,79	163,44
Desafio							
Controle	870,22	108,33	94,60 <sup>b</sup>	44,92	9,38 <sup>a</sup>	16,31 <sup>a</sup>	165,04
Desafiadas	810,96	121,65	106,20 <sup>a</sup>	46,50	7,70 <sup>b</sup>	14,35 <sup>b</sup>	176,63
DB + controle	891,18	106,73	98,34	45,73	9,21	16,65	177,34
DB + desafio	819,72	119,68	106,03	46,21	7,75	15,04	178,30
BS + controle	848,03	110,14	90,63	44,05	9,57	15,96	152,02
BS + desafio	802,20	123,75	106,38	46,81	7,65	13,62	174,86
Análise de variância							
CV, %	20,48	25,64	16,39	12,88	20,89	26,95	20,58
Dieta	0,4604	0,6072	0,3503	0,7035	0,7570	0,2899	0,0920
Desafio	0,1559	0,8714	0,0038	0,2553	0,0002	0,0493	0,1615
Dieta x Desafio	0,7548	0,9641	0,3062	0,4207	0,5861	0,7140	0,1978
42 dias							
Dieta							
Basal	1313,75	120,54	252,06	56,93	11,59	19,23	270,61
Butirato	1333,17	121,39	248,21	56,66	11,06	20,29	294,87
Desafio							
Controle	1339,32	115,10	246,44	56,58	11,95	20,06	284,16
Desafiadas	1304,18	127,49	254,64	57,07	10,66	19,41	280,58
DB + controle	1337,15	111,48	257,15	57,62	12,54	19,93	262,27
DB + desafio	1280,61	132,63	244,18	56,02	10,41	18,22	282,41
BS + controle	1341,95	119,56	232,43	55,38	11,21	20,22	310,74
BS + desafio	1324,38	123,08	262,86	58,04	10,92	20,36	279,00
Análise de variância							
CV, %	23,55	34,08	18,79	10,67	38,42	23,50	25,84
Dieta	0,7715	0,9480	0,8149	0,9473	0,7854	0,3442	0,2528
Desafio	0,6579	0,2752	0,4994	0,7504	0,4839	0,5396	0,7672
Dieta x Desafio	0,8157	0,4339	0,0968	0,2009	0,4856	0,4724	0,1888

CVilo: comprimento de vilo, LVilo: largura de vilo, PCripta: profundidade de cripta, LCripta: largura de cripta, CV:PC: relação comprimento de vilo:profundidade de cripta.

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

DB: dieta basal, BS: Butirato de Sódio

Fonte: Imperatori, 2018.

Tabela 11. Morfometria da mucosa intestinal do íleo de frangos de corte aos 28 dias e 42 dias de idade, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	CVilo, µm	LVilo, µm	PCripta, µm	LCripta, µm	CV:CP	Área de Absorção, µm <sup>2</sup>	Camada Muscular, µm
28 dias							
Dieta							
Basal	572,36	133,79	97,33	44,38	5,99	10,31	236,35
Butirato	586,14	143,59	97,19	43,71	6,14	10,17	223,49
Desafio							
Controle	572,89	140,75	94,27	42,70 <sup>b</sup>	239,43	6,21	10,31
Desafiadas	585,61	136,62	100,25	45,37 <sup>a</sup>	220,41	5,93	10,17
DB + controle	589,56 <sup>b</sup>	134,59	93,97	42,79	6,38	10,81	242,85
DB + desafio	554,15 <sup>b</sup>	132,94	100,89	45,97	5,58	9,79	229,47
BS + controle	555,23 <sup>b</sup>	147,28	94,59	42,59	6,03	9,79	235,80
BS + desafio	615,32 <sup>a</sup>	140,10	99,65	44,77	6,25	10,53	211,87
Análise de variância							
CV, %	15,01	26,82	16,94	10,26	18,20	22,88	16,58
Dieta	0,5208	0,2686	0,9373	0,5263	0,5483	0,8055	0,0761
Desafio	0,5549	0,6215	0,1330	0,0182	0,2782	0,8014	0,1149
Dieta x Desafio	0,0248	0,7565	0,8148	0,6490	0,0589	0,1209	0,8974
42 dias							
Dieta							
Basal	776,04	155,67	241,74	60,74	3,28	10,77	324,79
Butirato	800,97	157,84	243,02	60,93	3,21	10,98	333,80
Desafio							
Controle	821,44 <sup>a</sup>	156,14	251,60	60,62	3,19	11,13	354,30 <sup>a</sup>
Desafiadas	754,59 <sup>b</sup>	157,48	232,35	61,08	3,31	10,61	303,72 <sup>b</sup>
DB + controle	855,73	159,70	268,55 <sup>a</sup>	62,12	3,25	11,33	346,99
DB + desafio	703,59	152,37	217,37 <sup>b</sup>	59,49	3,32	10,25	304,81
BS + controle	792,86	153,47	238,56 <sup>ab</sup>	59,47	3,14	10,96	359,78
BS + desafio	810,70	163,09	248,82 <sup>ab</sup>	62,82	3,30	11,01	302,63
Análise de variância							
CV, %	18,20	18,61	16,11	12,90	20,93	24,51	13,35
Dieta	0,3640	0,8055	0,9514	0,8856	0,5611	0,8140	0,7034
Desafio	0,0597	0,9000	0,0918	0,8797	0,7447	0,5273	0,0090
Dieta x Desafio	0,1394	0,3555	0,0132	0,2155	0,5120	0,4948	0,5917

CVilo: comprimento de vilosidade, LVilo: largura de vilosidade, PCripta: profundidade de cripta, LCripta: largura de cripta, CV:PC: relação comprimento de vilosidade:profundidade de cripta.

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

DB: dieta basal, BS: Butirato de Sódio

Fonte: Imperatori, 2018.

As imagens captadas por microscopia eletrônica de varredura ilustram os dados já apresentados anteriormente reforçando que o desafio entérico proposto foi eficaz e provocou lesões características no epitélio intestinal das aves desafiadas. A observação dos pontos de

extrusão epitelial evidente nas aves desafiadas (Figuras 2 e 4) refletem os resultados encontrados nos parâmetros de desempenho e de morfometria. Entretanto, apesar da adição do Butirato de Sódio não influenciar na regeneração da mucosa intestinal das aves desafiadas, observa-se menor taxa de extrusão e danos à mucosa intestinal (figura 4) em relação às aves desafiadas e não suplementadas com Butirato de Sódio (figura 2).

Segundo Pluske et al. (1997) quando o intestino responde a algum agente (microrganismos, por exemplo) com um desequilíbrio no *turnover*, ocorre uma modificação na altura, bem como no perímetro dos vilos. Quando há um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição na taxa de proliferação celular, o intestino deverá responder com uma redução na altura dos vilos e, conseqüentemente diminuição em sua capacidade de digestão e absorção por ter disponível menor área de absorção.

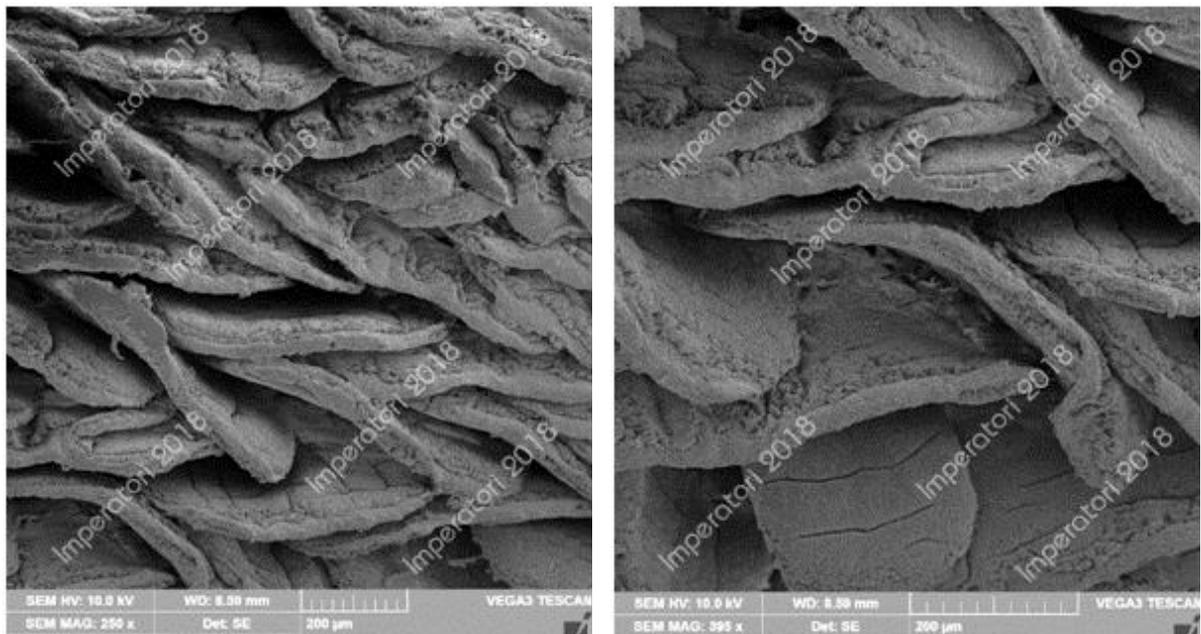


FIGURA 1. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias alimentados com dieta basal e não submetidos ao desafio experimental.

Fonte: Imperatori, 2018

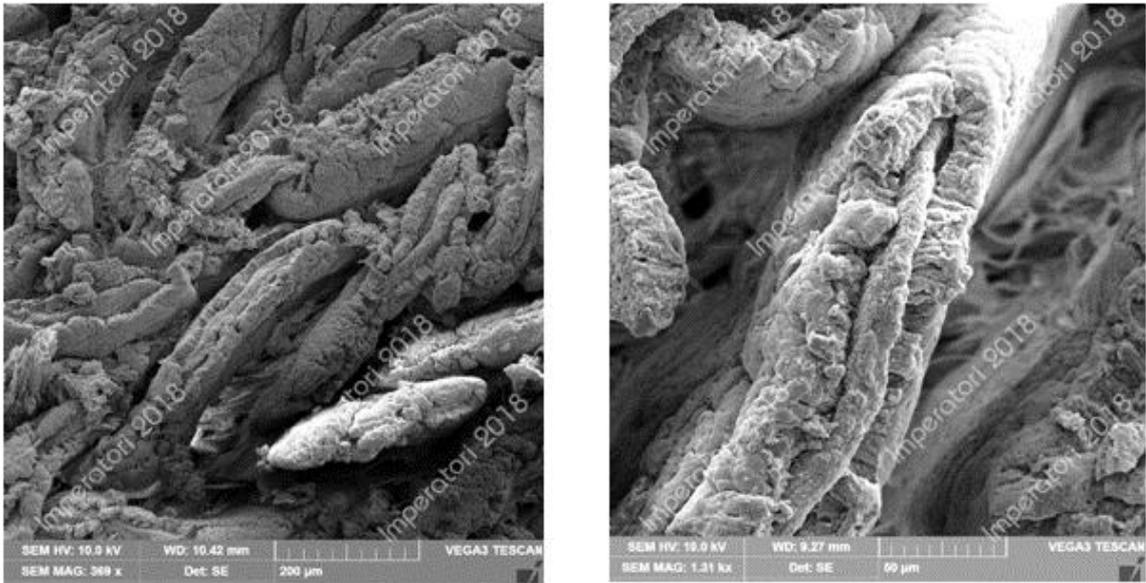


FIGURA 2. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta basal e submetidos ao desafio experimental.

Fonte: Imperatori, 2018

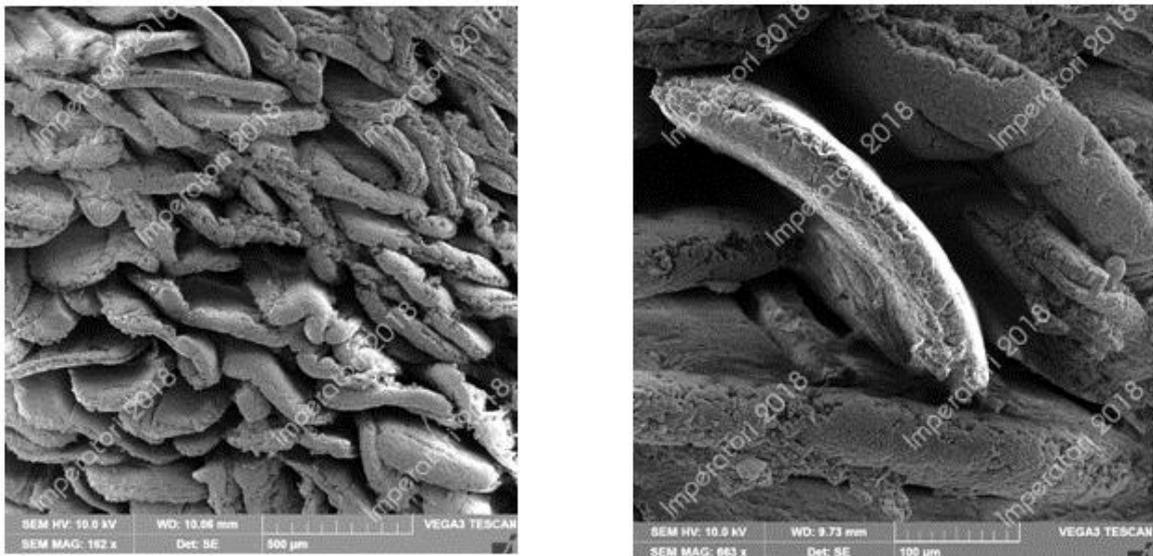


FIGURA 3. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta suplementada com Butirato de Sódio e não submetidos ao desafio experimental.

Fonte: Imperatori, 2018

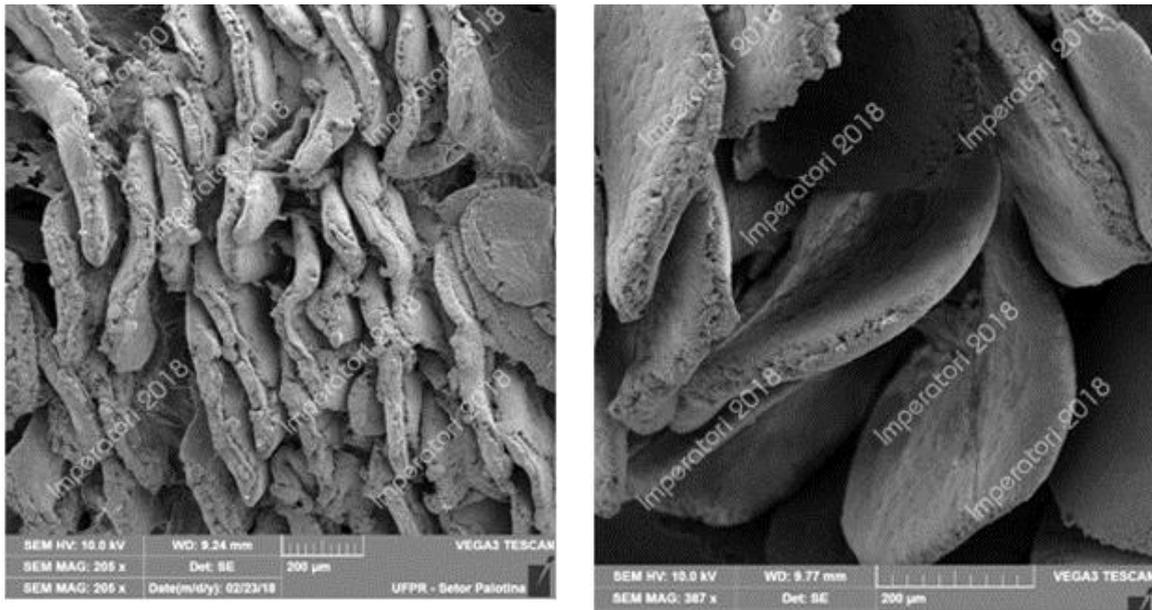


FIGURA 4. Imagem das vilosidades do jejuno de frangos de corte aos 28 dias, alimentados com dieta suplementada com Butirato de Sódio e submetidos ao desafio experimental.

Fonte: Imperatori, 2018

Os resultados da avaliação do grau de lesão histopatológica da mucosa intestinal aos 28 dias (Tabela 12) e aos 42 dias de idade (Tabela 13) são apresentados de acordo com a análise regressão logística ordinal. A regressão logística ordinal permite estudar a interação entre variáveis predictoras quando a variável resposta se apresenta em escada ordinal. Nessa análise, é testada se a probabilidade (razão de chance – *odds ratio*) é igual entre tratamentos (dieta e desafio) de apresentarem baixos valores de escore. Valores de “razão de chance” significativos indicam a maior ou menor chance de um tratamento em apresentar menores valores de escore, 1 e 2.

Aos 28 dias, não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) para interação entre dieta e desafio para nenhuma variável analisada, assim como da dieta ou desafio. Esses resultados demonstram haver a mesma chance tanto da dieta (basal ou com adição de Butirato de Sódio) como do desafio experimental (controle ou desafiadas) apresentarem valores menores de escore para as variáveis analisadas.

Mcdougald (2004) menciona que, muitas vezes, a manifestação da doença pode cursar sem sinais clínicos e lesões intestinais específicas, sendo esta forma chamada de doença subclínica. Essa forma de apresentação é comum em aves mais velhas, após o desenvolvimento da imunidade aos parasitas. Infecção leve ou subclínica pode incidir sobre o desempenho zootécnico das aves (ganho de peso e conversão alimentar), como observado no presente

experimento, assim como alstrar a morfometria da mucosa, sem no entanto, resultar em lesões microscópicas significativas na mucosa intestinal.

Tabela 12. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores de lesões histopatológicas associadas ao índice de saúde intestinal de frangos de corte aos 28 dias de idade de frangos de corte suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

Variáveis	Atrofia de vilos - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	11 (30.56)	14 (38.89)	8 (22.22)	3 (8.33)	0.9754
Butirato	13 (36.11)	10 (27.78)	11 (30.56)	2 (5.56)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	0.99 (0.42 – 2.30)				
Desafio					
Controle	9 (25.00)	12 (33.33)	11 (30.56)	4 (11.11)	0.0648
Desafiadas	15 (41.67)	12 (33.33)	8 (22.22)	1 (2.78)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	0.45 (0.19 – 1.06)				
Dieta*Desafio					0.5252
Variáveis	Fusão de vilos - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	10 (27.78)	13 (36.11)	8 (22.22)	5 (13.89)	0.5198
Butirato	9 (25.00)	9 (25.00)	14 (38.89)	4 (11.11)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	1.32 (0.57 – 3.04)				
Desafio					
Controle	8 (22.22)	10 (27.78)	13 (36.11)	5 (13.89)	0.2794
Desafiadas	11 (30.56)	12 (33.33)	9 (25.00)	4 (11.11)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	0.63 (0.27 – 1.46)				
Dieta*Desafio					0.5108
Variáveis	Proliferação de enterócitos - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	10 (27.78)	17 (47.22)	7 (19.44)	2 (5.56)	0.4001
Butirato	11 (30.56)	18 (50.00)	7 (19.44)	0 (0.00)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	0.78 (0.33 – 1.87)				
Desafio					
Controle	13 (36.11)	13 (36.11)	9 (25.00)	1 (2.78)	0.1735
Desafiadas	8 (22.22)	22 (61.11)	5 (13.89)	1 (2.78)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	1.09 (0.46 – 2.60)				
Dieta*Desafio					0.0890
Variáveis	Infiltração inflamatória epitelial - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	1 (2.78)	23 (63.89)	12 (33.33)	0 (0.00)	0.5452
Butirato	0 (0.00)	23 (63.89)	11 (30.56)	2 (5.56)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	1.32 (0.51 – 3.45)				
Desafio					
Controle	0 (0.00)	22 (61.11)	13 (36.11)	1 (2.78)	0.3803
Desafiadas	1 (2.78)	24 (66.67)	10 (27.78)	1 (2.78)	
<i>Odds 0 x 1 (IC 95%)</i>	0.65 (0.25 – 1.71)				
Dieta*Desafio					0.6687

.....continuação

Variáveis	Infiltração inflamatória mista na lâmina própria - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	3 (8.33)	16 (44.44)	16 (44.44)	1 (2.78)	0.8144
Butirato	2 (5.56)	17 (47.22)	15 (41.67)	2 (5.56)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	1.11 (0.46 – 2.67)				
Desafio					
Controle	4 (11.11)	14 (38.89)	15 (41.67)	3 (8.33)	0.7109
Desafiadas	1 (2.78)	19 (52.78)	16 (44.44)	0 (0.00)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	0.85 (0.35 – 2.05)				
Dieta*Desafio					0.9948
Variáveis	Congestão - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	11 (30.56)	18 (50.00)	6 (16.67)	1 (2.78)	0.5285
Butirato	10 (27.78)	15 (41.67)	11 (30.56)	0 (0.00)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	1.38 (0.58 – 3.27)				
Desafio					
Controle	11 (30.56)	14 (38.89)	11 (30.56)	0 (0.00)	0.7364
Desafiadas	10 (27.78)	19 (52.78)	6 (16.67)	1 (2.78)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	0.84 (0.35 – 1.98)				
Dieta*Desafio					0.2399
Variáveis	Necrose - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	12 (33.33)	20 (55.56)	4 (11.11)	0 (0.00)	0.9217
Butirato	11 (30.56)	23 (63.89)	2 (5.56)	0 (0.00)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	0.96 (0.38 – 2.40)				
Desafio					
Controle	13 (36.11)	19 (52.78)	4 (11.11)	0 (0.00)	0.7487
Desafiadas	10 (27.78)	24 (66.67)	2 (5.56)	0 (0.00)	
Odds 0 x 1 (IC 95%)	1.16 (0.46 – 2.93)				
Dieta*Desafio					0.9217

Aos 42 dias (Tabela 13), não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) para interação entre dieta e desafio para nenhuma variável analisada. Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) apenas para a dieta sobre a fusão de vilos. Para dieta encontrou-se significância ( $p = 0,0241$  e Odds ratio = 0.37), assim, a dieta basal apresentou 63% menos chance ( $1 - 0.37$  valor do *odds*) de apresentar valores menores de escore comparada com a dieta suplementada com Butirato de Sódio. Isso é evidente observando as frequências dos escores para ambas as dietas (Tabela 13 e Figura 1). Para as outras lesões avaliadas, não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) da dieta ou desafio. Esses resultados demonstram haver a mesma chance tanto da dieta (basal ou com adição de Butirato de Sódio) como do desafio experimental (controle ou desafiadas) apresentarem valores menores de escore para as demais variáveis analisadas.

Em casos de desafios entéricos que venham a provocar abalos na estrutura intestinal normal, o rendimento animal será diretamente afetado. Alterações nos vilos podem ocasionar atrofia ou fusão de vilos comprometendo o potencial de absorção de nutrientes. Teirlynck et al.

(2009) explicam que essa alteração nos vilos pode ser desencadeada pela colonização por patógenos que induz ao dano epitelial e inflamação. Gholamiandehkordi, et al. (2007) citam que as bactérias podem induzir ao dano epitelial e fusão de vilos através da produção de toxinas e indução da inflamação. Nesse experimento foi utilizada como desafio além da vacina contendo oocistos de coccídeos, a inoculação de *E. coli*, que são fatores ligados a ocorrência de lesões intestinais. Para esses quesitos (atrofia e fusão de vilos) chama a atenção que o grupo que recebeu dieta suplementada com butirato de sódio e que foi desafiado, apresentou menor percentual de aves com escore de lesão acentuado. Por outro lado, esse grupo apresentou um maior percentual de proliferação de enterócitos. Onrust et al. (2015) citam respostas favoráveis ao uso de ácidos orgânicos protegidos em termos de manutenção da saúde intestinal, como fonte de energia para células intestinais, também podendo atuar positivamente sobre a proliferação, diferenciação e maturação de células intestinais, além da manutenção da integridade da barreira intestinal e em consequência, maior eficiência alimentar e ganho de peso.

Em relação à ocorrência de necrose tecidual, os números chamam a atenção para a possível relação entre o percentual de aves com necrose da mucosa intestinal com o de aves que apresentaram atrofia de vilos. Essa relação é possível visto que a lesão não causará efeitos idênticos em todas as aves nem causará o mesmo grau de lesão nas diferentes áreas intestinais. No entanto, presume-se que a necrose epitelial pode levar ao maior número de atrofia e de fusão de vilos.

Tabela 13. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores de lesões histopatológicas associadas ao índice de saúde intestinal de frangos de corte aos 42 dias de idade de frangos de corte suplementados ou não com butirato de sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

Variáveis	Atrofia de vilos - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	3 (8.33)	7 (19.44)	16 (44.44)	10 (27.78)	0.1827
Butirato	6 (16.67)	10 (27.78)	12 (33.33)	8 (22.22)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.56 (0.24 - 1.33)				
Desafio					
Controle	4 (11.11)	8 (22.22)	16 (44.44)	8 (22.22)	0.9337
Desafiadas	5 (13.89)	9 (25.00)	12 (33.33)	10 (27.78)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.97 (0.41 - 2.27)				
Dieta*Desafio					0.2955
Variáveis	Fusão de vilos - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	4 (11.11)	11 (30.56)	16 (44.44)	5 (13.89)	0.0241
Butirato	9 (25.00)	16 (44.44)	7 (19.44)	4 (11.11)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.37 (0.15 - 0.88)				
Desafio					
Controle	5 (13.89)	12 (33.33)	14 (38.89)	5 (13.89)	0.1431
Desafiadas	8 (22.22)	15 (41.67)	9 (25.00)	4 (11.11)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.53 (0.22 - 1.25)				
Dieta*Desafio					0.7325
Variáveis	Proliferação de enterócito - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	2 (5.56)	17 (47.22)	16 (44.44)	1 (2.78)	0.9644
Butirato	0 (0.00)	21 (58.33)	12 (33.33)	3 (8.33)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	1.01 (0.41 - 2.49)				
Desafio					
Controle	1 (2.78)	18 (50.00)	15 (41.67)	2 (5.56)	0.6751
Desafiadas	1 (2.78)	20 (55.56)	13 (36.11)	2 (5.56)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.83 (0.34 - 2.03)				
Dieta*Desafio					0.2976
Variáveis	Infiltração inflamatória epitelial - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	3 (8.33)	20 (55.56)	12 (33.33)	1 (2.78)	0.4356
Butirato	7 (19.44)	17 (47.22)	11 (30.56)	1 (2.78)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.71 (0.29 - 1.72)				
Desafio					
Controle	6 (16.67)	16 (44.44)	12 (33.33)	2 (5.56)	0.7170
Desafiadas	4 (11.11)	21 (58.33)	11 (30.56)	0 (0.00)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.84 (0.35 - 2.03)				
Dieta*Desafio					0.6672
Variáveis	Infiltração inflamatória mista na lâmina própria - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	0 (0.00)	12 (33.33)	20 (55.56)	4 (11.11)	0.1970
Butirato	0 (0.00)	16 (44.44)	19 (52.78)	1 (2.78)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.55 (0.22 - 1.37)				
Desafio					
Controle	0 (0.00)	15 (41.67)	18 (50.00)	3 (8.33)	0.7622
Desafiadas	0 (0.00)	13 (36.11)	21 (58.33)	2 (5.56)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	1.16 (0.47 - 2.88)				
Dieta*Desafio					0.7622

.....continuação

Variáveis	Congestão - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	5 (13.89)	22 (61.11)	6 (16.67)	3 (8.33)	0.0804
Butirato	10 (27.78)	21 (58.33)	5 (13.89)	0 (0.00)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.43 (0.17 - 1.11)				
Desafio					
Controle	8 (22.22)	22 (61.11)	4 (11.11)	2 (5.56)	0.6055
Desafiadas	7 (19.44)	21 (58.33)	7 (19.44)	1 (2.78)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	1.27 (0.51 - 3.16)				
Dieta*Desafio					0.4010
Variáveis	Necrose - Frequência do escore (%)				P-valor
	0	1	2	3	
Dieta					
Basal	15 (41.67)	15 (41.67)	5 (13.89)	1 (2.78)	0.3603
Butirato	17 (47.22)	17 (47.22)	2 (5.56)	0 (0.00)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.66 (0.27 - 1.61)				
Desafio					
Controle	16 (44.44)	16 (44.44)	3 (8.33)	1 (2.78)	0.9737
Desafiadas	16 (44.44)	16 (44.44)	4 (5.56)	0 (0.00)	
<i>Odds</i> 0 x 1 (IC 95%)	0.99 (0.41 - 2.40)				
Dieta*Desafio					0.6662

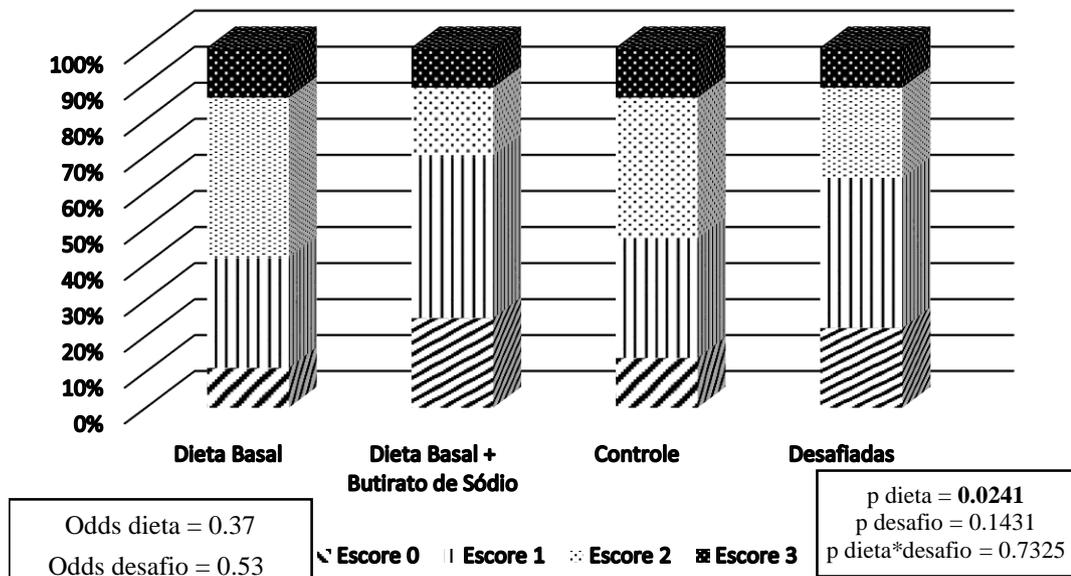


Figura 5. Regressão logística ordinal e frequência relativa dos escores para fusão de vilos de frangos de corte aos 42 dias de idade de frangos – “Chance” de 63% da dieta a base de butirato de sódio apresentar os menores escores de fusão de vilos em comparação com a dieta basal.

Fonte: Imperatori, 2018

Em relação a carcaça dos frangos de corte estudados foram avaliados os pesos absolutos e relativos de carcaça, de peito, de perna e deposição de gordura abdominal (Tabelas 14 e 15). As aves que não foram desafiadas apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) peso de carcaça, de peito e de

pernas, independentemente da dieta (Tabela 14). Esse resultado corrobora com o observado /para o desempenho produtivo (Tabela 06). Quando foram considerados os valores relativos, observou-se apenas efeito sobre o rendimento de asas. Aves suplementadas com Butirato de Sódio, independentemente do desafio entérico, apresentaram maior rendimento de asas (Tabela 15).

Tabela 14. Pesos absolutos de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Carcaça	Peito	Pernas	Asas	Gordura
Dieta					
Basal	2260,96	859,28	704,72	216,15	46,53
Butirato de sódio	2241,81	848,69	704,37	217,85	47,15
Desafio					
Controle	2285,56 <sup>a</sup>	869,94 <sup>a</sup>	714,52 <sup>a</sup>	219,22	46,93
Desafiadas	2217,22 <sup>b</sup>	838,22 <sup>b</sup>	694,57 <sup>b</sup>	214,78	46,75
Dieta basal + controle	2294,52	873,08	715,30	217,89	45,77
Dieta basal + desafio	2227,41	846,00	694,15	214,41	47,29
Butirato de sódio + controle	2276,59	866,93	713,74	220,56	48,08
Butirato de sódio + desafio	2207,04	830,44	695,00	215,15	46,22
CV, %	6,27	8,35	6,89	5,47	23,83
Dieta	0,4825	0,4332	0,9701	0,4597	0,7727
Desafio	0,0134	0,0232	0,0353	0,0556	0,9363
Dieta x Desafio	0,9642	0,7339	0,8978	0,6757	0,4357

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Consultando relatos encontrados em literatura científica é possível identificar que o rendimento de carcaça repetidamente não apresenta resultados favoráveis aos aditivos alimentares. Por exemplo, nos trabalhos de Maiorka et al. (2001), de Corrêa et al. (2003), de Santos et al. (2004) e de Pelicano et al. (2004) fazendo uso de diferentes produtos probióticos, o rendimento de carcaça e de cortes em comparação com a ração-controle sem aditivos não foi alterado.

Por outro lado, ao avaliar coelhos que receberam dietas com diferentes tipos de aditivos alimentares, Michelan et al. (2002) identificaram que os indivíduos que receberam dietas à base de ácidos orgânicos apresentaram melhores índices de rendimento de carcaça em comparação ao grupo da dieta controle. Esse resultado, mesmo que aplicado a outra espécie de animal monogástrico, pode ser interpretado como um indicativo de que resultados positivos para rendimento de carcaça podem ser alcançados com ajustes de protocolos testados.

Tabela 15. Pesos relativos de carcaça, de cortes comerciais e gordura abdominal de frangos de corte, suplementados ou não com Butirato de Sódio e submetidos ou não a um desafio entérico

	Carcaça	Peito	Pernas	Asas	Gordura
Dieta					
Basal	76,82	37,41	31,17	9,57 <sup>b</sup>	2,06
Butirato de sódio	76,70	37,82	31,44	9,73 <sup>a</sup>	2,11
Desafio					
Controle	76,91	37,44	31,28	9,60	2,06
Desafiadas	76,61	37,78	31,33	9,70	2,11
Dieta basal + controle	77,09	36,84	31,18	9,51	2,01
Dieta basal + desafio	76,56	37,97	31,16	9,64	2,12
Butirato de sódio + controle	76,74	38,05	31,38	9,70	2,12
Butirato de sódio + desafio	76,67	37,59	31,51	9,76	2,10
CV, %	2,06	4,33	4,09	3,98	24,23
Dieta	0,6867	0,2401	0,2706	0,0358	0,6351
Desafio	0,3308	0,1566	0,8340	0,2017	0,6486
Dieta x Desafio	0,4561	0,9967	0,7498	0,6657	0,4970

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente.

Fonte: Imperatori, 2018.

Uma avaliação interessante a ser levada em consideração é o peso absoluto das carcaças. Neste estudo, a dieta não resultou em diferença estatística ( $P > 0,05$ ). Por outro lado, o peso absoluto da carcaça foi afetado pelo desafio entérico, o qual é de extrema relevância para o resultado financeiro de uma planta frigorífica. Novamente, se ressalta a importância do programa de controle de doenças e melhorias nos procedimentos de biossegurança para que se minimizem os desafios sanitários.

Dessa forma, avaliando os resultados encontrados nessa pesquisa bem como algumas menções de literatura é possível afirmar que mais pesquisas são necessárias para comprovar se o uso de aditivos alimentares como ácidos orgânicos ou outros produtos, suas recomendações de doses, entre outras peculiaridades, podem ou não apresentar resultados satisfatórios sobre rendimento de carcaça ou de cortes industriais.

Os recentes aumentos nos custos da cadeia produtiva de aves e suínos, em decorrência da alta nos preços dos ingredientes utilizados na alimentação animal, demandam a adoção de estratégias nutricionais que resultem em melhor aproveitamento dos nutrientes com consequente aumento da eficiência produtiva. Além disso, com a provável retirada dos antibióticos promotores de crescimento das rações, aditivos terão que ser utilizados no intuito de minimizar as perdas de produtividade. Nesse sentido, são necessários estudos a fim de se estabelecer exigências nutricionais também para animais em situações de desafio entérico. Apesar do vasto conhecimento em nutrição de aves, há poucas informações assegurando se os

níveis de nutrientes para um ótimo desempenho zootécnico em animais saudáveis são adequados frente a um desafio infeccioso.

## 5.4. Conclusão

A suplementação da dieta de frangos de corte de 22 a 42 dias de idade com butirato de sódio submetidos ou não a um desafio entérico não influenciou o desempenho produtivo dos frangos de corte e a permeabilidade da mucosa intestinal.

As aves que foram desafiadas, apresentaram maior taxa de renovação celular por meio do aumento de profundidade e largura da cripta, redução da relação comprimento de vilo:profundidade de cripta do duodeno e menor área de absorção na mucosa do jejuno em relação às aves controle. No íleo, o desdobramento da interção mostrou maior comprimento do vilo das aves que foram desafiadas e suplementadas com butirato de sódio em relação às desafiadas, mas que receberam apenas dieta basal.

A suplementação com butirato de sódio, resultou em menores scores de atrofia de vilos de frangos de corte aos 42 dias de idade.

As aves que foram desafiadas apresentaram menor peso de carcaça, de peito e de pernas, independentemente da dieta.

## 5.5. Referências:

- ABBAS, R.Z.; MUNAWAR, S.H.; MANZOOR, Z. et al. Anticoccidial effects of acetic acid on performance and pathogenic parameters in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 99-103, 2011.
- AGRESTI, A. **An Introduction to Categorical Data Analysis**. Nova Jersey, 2 ed. 2007. Editora John Wiley and Sons.
- ALLEN P.C.; FETTERER R.H. Recent advances in biology of *Eimeria* species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clin. Microb. Rev.**, 15: 58-65, 2002.
- BARROS, M.E.G.. **Avaliação morfológica, bioquímica e zootécnica de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado**. p. 40. Dissertação (Mestrado Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
- BEÇAK, W.P.J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos S.A., 1976.
- BOROSKY, J.C. **O uso de ácidos orgânicos e suas particularidades na produção animal**. 2012. Disponível em: <<https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/acidos-organicos-producao-animal-t36978.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa nº. 3**, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. Diário Oficial da União, Brasília, p.14-16, 24 de janeiro de 2000, Seção I.
- CALAÇA, G.M. **Ácidos orgânicos no controle de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte desafiados experimentalmente com *Salmonella enteritidis* e *Eimeria tenella***. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.
- CHENG, G.; HAO, H.; XIE, S. et al. Antibiotic 64 alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? **Frontiers in Microbiology**, v. 5, article 217, p. 1-15, 2014.
- COLLIER, C.T.; HOFACRE, C.L.; PAYNE, A.M. et al. Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. **Veterinary Immunopathology**. v.122, n.1-2, p.104-115, 2008.
- CORREA, G.S.S; GOMES, A.V.C.; CORREA, A.B. et al. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia** 2003 a; 55(4):467-473.
- DIBNER, J.J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 453-463, 2002.

- DOWLING, R.H. 1992. Cellular and molecular basis of intestinal and pancreatic adaptation. **Scand. J Gastr.** 27:64-67, (Supl. 193).
- GARCIA, R.G.; ARIKI, J.; MORAES, V.M.B. et al. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos epromotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira deCiência Avícola**, v.2, n.2, p.149-154, 2000.
- GHOLAMIANDEHKORDI, A.R.; TIMBERMONT, L.; LANCKRIET, A. Quantification of gut lesions in a subclinical necrotic enteritis model. **Avian Pathology**. 36:375-382, 2007.
- GORDON, H.M.L.; WHITLOCK, H.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J. Coun. Sci. Ind. Res.** 12:50–52.
- GOTTARDO, E.T.; PROKOSKI, K.; HORN, D. et al. Regeneration of the intestinal mucosa in *Eimeria* and *E. Coli* challenged broilers supplemented with amino acids, **Poultry Science**, Volume 95, Issue 5, 1 May 2016, Pages 1056–1065, <<https://doi.org/10.3382/ps/pev356>>
- HAYASHI, R. M. **Práticas de acidificação em água e ração**. 2012. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=25043&secao=Sani dade%20Animal>>. Acesso em: 19/02/2018.
- ISO 15213 - **Microbiology of food and animal feeding stuffs** – Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions, 2003.
- ISO 21528-2 **Microbiology of foods chain** – Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. Part 2: Colony count method, 2th ed. 2017.
- ISO 7218. **Microbiology of food and animal feeding stuffs** — General requirements and guidance for microbiological examination, 3 th ed. 2004.
- ITO N.M.K.; MIYAJI C.I.; LIMA E.A. et al. 2004. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: Mendes A. A. Nääs I. A. Macari M. **Produção de Frangos de Corte** (Campinas: FACTA). p. 205-260, 2004.
- JERZSELE, A.; SZEKER, K; CSIZINSKY,R. et al. Efficacy of protectedsodium butyrate, a protected blend of essential oils, their combination, and *Bacillus amyloliquefaciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**. 91:837-843,2012.
- KAWAZOE U. **Coccidiose In Doença das Aves**. Campinas, FACTA, 2000. p391-405.
- KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A. et al. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. Med.**, v.2, p.131-135, 2002.
- KRAIESKI, A.L.; HAYASHI, R.M.; SANCHES, A. et al. Effect of aflatoxin experimental ingestion and *Eimeria* vaccine challenges on intestinal histopathology and immune cellular dynamic of broilers: applying an Intestinal Health Index. **Poultry Science**.v.96, Issue 5, 1 May 2017, p. 1078 – 1087, <<http://doi.org/10.3382/ps/pew397>>

- LEESON, S.; NAMKUNG, H.; ANTONGIOVANNI, M. et al. Effect of butiric acid on the performance and the carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p.1418-1422, 2005.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S.M. et al. Utilization of prebiotics, probiotics or symbiotics in broiler chicken diets. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 3(1):75-82, 2001.
- MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A. et al. 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.
- McBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: **A review. J. Anim. Sci.** 68:2997–3010, 1990.
- McDOUGALD, L.R. Enteric disorders in turkeys: The importance of parasitic diseases and interactions. In: 5th International Symposium on Turkey Diseases; Berlin, Germany. p. 245-249, 2004.
- MICHELAN, A.C.; SCAPINELLO, C.; NATALI, M.R.M. et al. Utilização de Probiótico, Ácido Orgânico e Antibiótico em Dietas para Coelho em Crescimento: Ensaio de Digestibilidade, Avaliação da Morfometria Intestinal e Desempenho. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, n.6, p.2227-2237, 2002.
- MONTGOMERY, D.C.; PECK, E.A.; VINING, G.C. Generalized linear models. Pages 421–462 in **Introduction to Linear Regression Analysis**. 5th ed. D. C. Montgomery, E. A. Peck, and G. C. Vining, ed. John Wiley and Sons, New York, NY, 2012.
- ONRUST, L.; DUCATELLE, R.; VAN DRIESSCHE, K. et al. Steering endogenous butyrate production in the intestinal tract of broilers as a tool to improve gut health. **Front. Vet. Sci.** 2: 75, 2015.
- PARTANEN, K.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, v.12, n.1, p. 117-145, 1999.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. et al. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 6(3):177-182, 2004.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, 51, 215-236, 1997.
- RAFACZ-LIVINGSTONE, K. A.; PARSONS, C. M.; JUNGKT, R. A.. The effects of various organic acids on phytate phosphorus utilization in chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p.1356-1362, 2005.
- RICKE, S. C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, p. 632-639, 2003.
- RUSSEL, J.B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 363-370, 1992.

- SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2016, p.283.
- SALAZAR, P.C.R. **Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal de frangos de corte**. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- SANTOS, I.I.; POLI, A.; PADILHA, M.T.S. Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum Animal Sciences** 2004; 26(1):29-33.
- SAS INSTITUTE. **Software and services**: system for Windows, version 8.0 software Cary, 2002.
- SAS INSTITUTE - **SAS Institute**. 2000. Release 8.02. 2000. SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2012.
- SNOW, J.L.; BAKER, D.H.; PARSONS, C. Phytase, citric acids and 1- $\alpha$ -hydroxicholecalciferol improve phytate phosphorus utilizations in chicks fed a corn-soybean meal diet. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p. 1187-1192, 2004.
- SUN, X.; MCELROY, A.; WEBB, JR.K.E. et al. Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. **Poultry Science** 84, p.1294-1302, 2005.
- TAN, J.; APPELEGATE, T.J.; LIU, S. et al. Supplemental dietary L-arginine attenuates intestinal mucosal disruption during a coccidial vaccine challenge in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 7, p. 1098-1109, 2014.
- TEIRLUNK, E.; BJERRUM, L.; EECKHAUT, V. et al. The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. **Brazilian Journal Nutrition** 102:1453-1461, 2009.
- TELLEZ, G.; LATORRE, J.D.; KUTTAPPAN, V.A. et al. Utilization of rye as energy source affects bacterial translocation, intestinal viscosity, microbiota composition and bone mineralization in broiler chickens. **Frontier Genetics** v.5, 2014.
- UNI, Z.; PLATIN, R.; SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. **Journal of Comparative Physiology**. 168:241-247, 1998.
- VAN IMMERSEEL, F.; FIEVEZ, V.; DE BUCK, J. et al. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poultry Science** 83:69-74, 2004.
- VAN IMMERSEEL, F.; DE BUCK, J.; PASMANS, F. et al. Clostridium perfringens in poultry: An emerging threat for animal and public health. **Avian Pathology**, 33:537-549, 2004.
- VICUÑA, E.A.; KUTTAPPAN, V.A.; GALARZA-SEEBER, R. et al. Effect of dexamethasone in feed on intestinal permeability, differential white blood cell counts, and immune organs in broiler chicks, **Poultry Science**, Volume 94, Issue 9, 1 September 2015, Pages 2075-2080, <https://doi.org/10.3382/ps/pev211>

- YAN, Y.; KOLACHALA, V.; DALMASSO, G. et al. Temporal and Spatial Analysis of Clinical and Molecular Parameters in Dextran Sodium Sulfate Induced Colitis. **PLOS ONE** 4:e6073, 2009.
- ZOU, Y.; YANG, Z.B.; YANG, W.R. et al. (2010b) Effects of Sodium Butyrate on gut pH value, gut VFA and cecal microflora of broilers. **Hangzhou King Techina Technology Co Ltd.**,2010.