

MARIA EDNA GOMES DE BARROS

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA, BIOQUÍMICA E ZOOTÉCNICA DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS COM BUTIRATO DE SÓDIO
MICROENCAPSULADO

RECIFE
2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA, BIOQUÍMICA E ZOOTÉCNICA DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS COM BUTIRATO DE SÓDIO
MICROENCAPSULADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) como exigência final para obtenção do grau de mestre em Biociência Animal.

Orientador: Dr. Joaquim Evêncio Neto

RECIFE
2013

MARIA EDNA GOMES DE BARROS

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA, BIOQUÍMICA E ZOOTÉCNICA DE FRANGOS
DE CORTE SUPLEMENTADOS COM BUTIRATO DE SÓDIO
MICROENCAPSULADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) como exigência final para obtenção do grau de mestre em Biociência Animal.

APROVADA EM ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto
Orientador – Presidente

Dra. Lígia Reis de Moura Estevão – PNP/UFPE

Prof. Dr. Manuel de Jesus Simões – UNIFESP/EPM/SP

Profa. Dra. LirianeBaratella Evêncio – CCB/UFPE

DEDICATÓRIA

Dedico, primeiramente, ao Senhor Deus por cada pedra colocada em meu caminho, pois só assim, prestei mais atenção no percurso e pude admirar a beleza da vida, dar mais valor as pessoas e aprender que não se pode ter pressa, pois... “E disse aos seus discípulos: Portanto vos digo: Não estejais apreensivos pela vossa vida, sobre o que comereis, nem pelo corpo, sobre o que vestireis. Mais é a vida do que o sustento, e o corpo mais do que as vestes. Buscai antes o reino de Deus, e todas estas coisas vos serão acrescentadas”.

Lucas 12:22-31

E a minha mãe que além de dar a vida, me apresentou a Deus.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, pelos motivos já supracitados e por todo Seu amor.

A minha mãe Judite Viturino, pela vida, pela educação, pelos ensinamentos e toda sua dedicação e perseverança em me criar.

Ao meu pai Edson de Barros (*in memória*) que há muito é um anjo muito especial para mim.

Ao Professor Joaquim Evêncio Neto, meu orientador, meu pai acadêmico, pelos ensinamentos, confiança e paciência em todos esses anos.

Ao Professor, que para mim será sempre Professor, Mestre Antônio Pedro Soares, por toda paciência – e foi preciso muita paciência -, todo ensinamento e amizade.

Aos meus amigos de laboratório e de luta, Ana LÍzia Brito, Josenaldo Macedo, Mariana Rêgo, Jéssica Lima, Carolina Emery, Priscilla Oliveira, Danielle Dutra, Yuri Albuquerque, Dayane Dias, que até aqui muito me ajudaram.

A minha querida amiga Priscilla Maria Rocha, por toda amizade, confiança e dedicação. Pedra fundamental, motivacional e incentivadora desse trabalho.

A minha família e, especialmente, ao meu querido primo José Wellinthon Viturino pela amizade, incentivo e descontração.

Ao meu querido e amado Bruno Bezerra, que apesar de ter pegado o bonde andando, sempre o incentivou a prosseguir.

A todos que trabalham da Estação Experimental de Pequenos Animais de Carpina (EEPAC) da UFRPE.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que esse pudesse ser realizado.

A todos um grande muito OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
1.INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO GERAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. MORFOLOGIA INTESTINAL	14
3.2. ÁCIDOS ORGÂNICOS	19
3.3. FORNECIMENTO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA AVES	21
3.4. BUTIRATO DE SÓDIO	22
3.5. ENZIMOLOGIA	23
3.6.ENZIMA ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)	25
3.7. SISTEMA IMUNOLÓGICO	26
5. REFERÊNCIAS	28
Capítulo 1	35
Níveis séricos de enzimas de função hepáticas em frangos de corte suplementados com Butirato de sódio microencapsulado	36

RESUMO

A modernização mundial da indústria avícola junto às tendências de consumo em busca de alimentos seguros, que atendam as exigências dos países importadores da carne de frango brasileira, faz com que os ácidos orgânicos sejam uma alternativa em substituição ao uso de antibióticos. O presente trabalho tem o objetivo de avaliar os aspectos morfológicos, imunológicos e zootécnicos de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado. Para tanto, foram utilizados 720 pintinhos com um dia de vida, alojados em 40 boxes experimentais medindo 1,5 m², com 18 aves cada, com densidade de 12 frangos/m², distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2x6, onde os fatores foram duas rações experimentais: Controle: Ração sem suplementação de butirato de sódio; Tratado (BS): Ração com suplementação de butirato de sódio, com quatro repetições por tratamento e seis períodos de coleta 7, 14, 21 e 35 dias, a cada semana, duas aves por parcela experimental foram pesadas e abatidas por deslocamento cervical, das quais foram coletados fragmentos deduodeno, jejuno, íleo, fígado, baço, bursa de Fabricius e timo. As amostras foram pesadas e abertas longitudinalmente, lavadas em solução tampão fosfato (0,1 M e pH 7,4) e posteriormente fixadas em glutaraldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,4, por 24 horas, foram processadas em técnica histológica de rotina em parafina e historesina e coradas por Hematoxilina- Eosina, Hematoxilina-Floxina, Sudan Black e Alcian Blue. Para a avaliação da resposta imune humoral, foram coletadas amostras de sangue antes da vacinação contra a DNC (Doença de Newcastle) e aos 21, 33 e 42, onde foram avaliados os níveis de anticorpos em resposta a vacinação. Os níveis de anticorpos foram quantificados pela técnica de ELISA. Além disso foram avaliados os índices de desempenho zootécnico, tais como: conversão alimentar, ganho de peso diário, consumo diário de ração e a viabilidade das dietas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) do programa SAS, e as médias comparadas entre si pelo método de Tukey a 5% de significância. Foram feitas também análises de correlação.

Palavras-chaves: Ácidos orgânicos; Butirato de Sódio; frango de corte; morfologia.

ABSTRACT

The modernization of the global poultry industry along with consumer trends in search of safe foods that meet the requirements of importing countries of Brazilian chicken, makes the organic acids an alternative to replace the use of antibiotics. This study aims to evaluate the morphological, immunological and husbandry of broilers supplemented with microencapsulated sodium butyrate. Therefore, we used 720 chicks a day in life, housed in 40 boxes experimental measuring 1.5 m², with 18 birds each, with a density of 12 chickens / m², distributed in a completely randomized in a 2x6 factorial, where factors were two experimental diets: control: Ration without supplementation of sodium butyrate; Treaty (BS): Feed supplementation with sodium butyrate, with four replicates per treatment and six collection periods 7, 14, 21 and 35 days each week, two birds per plot were weighed and killed by cervical dislocation, which were collected fragments of duodenum, jejunum, ileum, liver, spleen, thymus and bursa of Fabricius. The amostras foram weighed and opened longitudinally, rinsed in phosphate buffer (0.1M, pH 7.4) and then fixed in 4% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, for 24 hours, were processed in Routine histological technique in paraffin and historesin and stained by hematoxylin-eosin, hematoxylin-Phloxine, Sudan Black and Alcian Blue. To evaluate the humoral immune response, blood samples were collected before vaccination DNC (Newcastle disease) and at 21, 33 and 42, where we assessed the levels of antibodies in response to vaccination. The antibody levels were quantified by ELISA. In addition we assessed the levels of animal performance, such as feed, daily weight gain, feed intake and viability of diets. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) of SAS, and the averages compared by Tukey method at 5% significance. Were also made correlation analyzes.

Keywords: Organic Acids; Sodium butyrate; broiler; morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da anatomia da parede do intestino delgado num corte transversal.....	15
Figura 2: Diminuição da área de absorção intestinal por perda de enterócitos maduros da extremidade das vilosidades.....	17
Figura 3: Representação esquemática do epitélio do intestino delgado: vilosidade e criptas intestinais.....	19
Capítulo 1	
Figura 1: Fotografia dos fígados. A) Grupo controle. B) Grupo suplementado com BS.....	44
Figura 2: Fotomicrografias dos fígados analisados. A) Grupo controle aos 7 dias, vacuolização com característica cística e condensação dos núcleos. B) Grupo tratado com BS aos 7 dias, vacuolização com característica lipídica e poucos núcleos condensados. C) Grupo controle aos 14 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica e pouca condensação dos núcleos. D) Grupo tratado com BS aos 14 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica e poucos núcleos condensados. Aumento de 400x.....	45
Figura 3: Fotomicrografias dos fígados analisados. :Fotomicrografias dos fígados analisados. A) Grupo controle aos 21 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica e condensação dos núcleos. B) Grupo tratado com BS aos 21 dias, com leve vacuolização com característica cística. C) Grupo controle aos 28 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica. D) Grupo tratado com BS aos 28 dias, com intensa vacuolização e desarranjo dos cordões sinusoidais. E) Grupo controle aos 35 dias, com intensa vacuolização com característica cística e condensação dos núcleos. F) Grupo tratado com BS aos 35 dias, com leve vacuolização com característica lipídica e condensação dos núcleos. Aumento de 400x.....	46

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Capítulo 1	
Tabela 1. Pesos médios das aves nos grupos Controle e BS nas idades analisadas durante o experimento.....	40
Tabela 2. Níveis médios de AST e ALT nos grupos Controle e BS nas idades analisadas.....	41
Tabela 3. Pesos médios dos fígados das aves nos grupos Controle e BS nas idades analisadas.....	43

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O grande crescimento e modernização mundial da indústria avícola nas últimas duas décadas tornou claro e evidente a necessidade de uma maior e mais detalhada atenção no que diz respeito à saúde dos plantéis. Principalmente porque o crescimento desta indústria está baseado em um grande aumento no tamanho dos sistemas de produção (granjas ou complexos de granjas e núcleos) com um consequente aumento na densidade animal em uma determinada área geográfica. Isto se traduz em uma situação ideal para a multiplicação e disseminação de vários patógenos de aves (vírus e bactérias, principalmente) e a ocorrência de surtos de enfermidades que acarretam elevados prejuízos econômicos (SESTI, 2000).

Abusca pela máxima eficiência alimentar na avicultura é um ponto crítico a ser considerado nas criações comerciais. Muitos aditivos, dentre eles os antibióticos, são rotineiramente utilizados em rações para controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo, promovendo melhoranos índices zootécnicos e maximizando a produção. No entanto, depois de muitos anos de uso como aditivo em rações (segunda metade do século passado), os antibióticos passaram a ser vistos como fatores de risco para a saúde humana sofrendo contestações basicamente em duas linhas: a) presença de resíduos na carne utilizada na alimentação humana que podem ser próprios aditivos ou seus metabólitos e b) possibilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana em humanos (FURLAN, 2010).

Este problema é muito menos agudo com as matrizes reprodutoras já que os antibióticos não são usados na rotina com os frangos de corte como promotores de crescimento, existindo riscos menores em desenvolver-se resistência com o uso descontinuo (LESSON e SUMMERS, 2000).

Em função das tendências de consumo, voltadas para satisfazer a necessidade de alimentos seguros com menores riscos à saúde humana, os antibióticos foram completamente banidos da Europa em Janeiro de 2006 para uso como promotores do crescimento (RAMOS, 2009). Associa-se esta constatação com o fato do Brasil ser o terceiro maior produtor mundial de carne de frango desde o ano de 2007, consolidando-se como o maior exportador mundial de carne de frango, segundo (ABEF, 2009). Dentre as alternativas consideradas como produtos substitutivos estão os ácidos

orgânicos, onde há um efeito antibacteriano específico à semelhança dos antibióticos, principalmente para ácidos orgânicos de cadeia curta, sendo particularmente efetivos contra *E. coli*, *Salmonellae* e *Campylobacter* (DIBNER e BUTTIN, 2002; RICKE, 2003).

Trata-se de uma substância que facilita a colonização do trato gastrointestinal (TGI) pelas bactérias úteis, promovendo um amadurecimento mais rápido da mucosa do intestino delgado de pintos (JANSSENS e NOLLET, 2002).

Os ácidos orgânicos mais usados na avicultura são o fórmico, o acético, o propiônico, o butírico, o láctico, o cítrico e o fumárico, apresentando, respectivamente, os seguintes pKa: 3,75; 4,76; 4,87; 4,81; 3,86; 3,09/4,75/5,41; 3,03/4,54 (LEANDRO et al., 2010).

O butirato de sódio é um sal derivado do ácido butírico e que, portanto, funciona e atua como um acidificante. É muitas vezes utilizado como substituto do ácido butírico, uma vez que é sólido, estável e tem um odor muito menos intenso. Este acidificante pode ser utilizado na sua forma livre ou na sua forma protegida (microencapsulada). O butirato microencapsulado influencia a parte posterior do trato gastrointestinal (VAN IMMERSSEEL et al., 2004), enquanto que este composto não protegido, apenas afetará diretamente a parte proximal do trato digestivo (THOMPSON e HINTON, 1997).

A modernização mundial da indústria avícola junto às tendências de consumo em busca de alimentos seguros, que atendam as exigências dos países importadores da carne de frango brasileira, faz com que os ácidos orgânicos sejam uma alternativa em substituição ao uso de antibióticos. E o estudo dos aspectos morfológicos, bioquímicos e zootécnicos de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado é de suma importância para a avaliação dessa alternativa para o segmento produtivo avícola.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os aspectos morfológicos, bioquímicos e zootécnicos de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os aspectos zootécnicos (ganho de peso diário, viabilidade, conversão alimentar e consumo de ração diária) de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado;
- Avaliar os aspectos morfológicos (morfologia intestinal e dos órgãos linfóides) de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado;
- Avaliar aspectos imunológicos (níveis séricos de enzimas com atividade hepática) de frangos de corte suplementados com butirato de sódio microencapsulado.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. MORFOLOGIA INTESTINAL

O TGI das aves, segundo Reece (2006) e Artoni (2004), é um tubo oco e fibromusculoso que se estende da boca à cloaca, com algumas estruturas acessórias, desempenhando as funções de ingestão, trituração, digestão e absorção de nutrientes essenciais aos processos metabólicos, pela corrente sanguínea, que os transporta para todos os órgãos e tecidos, bem como a eliminação dos resíduos sólidos através de suas fezes.

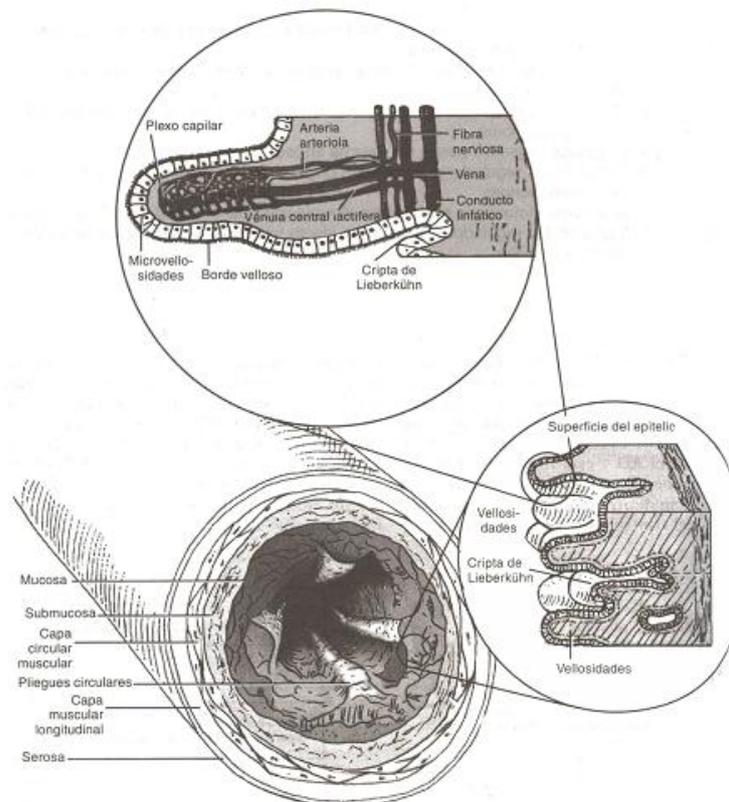


Figura 1: Representação esquemática da anatomia da parede do intestino delgado num corte transversal (HERDT, 1999).

Segundo Sisson (1986), a anatomia do sistema digestório das aves domésticas pode ser descrita, da região cranial para a caudal, da seguinte maneira: cavidade oral, faringe, esôfago, inglúvio, proventrículo, moela, intestinos delgado e grosso, e cloaca. A ele também estão ligadas duas glândulas anexas, o fígado e o pâncreas, além da bolsa cloacal.

Segundo Boleli, Maiorka e Macari (2002), os órgãos tubulares do sistema digestório das aves seguem um modelo estrutural básico, constituído por quatro túnicas concêntricas, com características histológicas e funcionais distintas. Tais estruturas são túnicas denominadas, da luz para a periferia do órgão, de mucosa, submucosa, muscular e serosa.

A túnica mucosa é composta por vilosidades, evaginações da mucosa, com borda estriada e com células caliciformes (GARTNER e HIATT, 1999). Banks (1992) relata que entre os pontos de inserção das vilosidades na mucosa observam-se orifícios de desembocadura de glândulas tubulares simples (glândulas intestinais ou de Lieberkühn).

As células que compõem a túnica mucosa, segundo Gartner e Hiatt (1999) e Boleli, Maiorka e Macari (2002) são as células caliciformes, as intestinais prismáticas (enterócitos), as de Paneth, as células enteroendócrinas (produtoras de polipeptídeos) e as células M. O conjunto dessas células responde pela defesa, digestão e absorção, e pela regulação desses processos e pela proliferação e diferenciação desses mesmos tipos celulares (BOLELI, MAIORKA e MACARI, 2002).

O TGI se encontra imaturo durante a fase embrionária e, após a eclosão, passa a ter grande importância no crescimento das aves (NITSAN, 1995), e nos primeiros dias de vida, sofrem processos adaptativos, buscando maior eficiência nos processos de digestão e absorção. Na eclosão o sistema digestório da ave está anatomicamente completo, mas sua capacidade funcional ainda não, assim o trato gastrintestinal sofre grandes alterações morfológicas e fisiológicas. As alterações morfológicas mais evidentes são: o aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade das vilosidades, no número de enterócitos e nas células caliciformes. As alterações fisiológicas estão relacionadas com o aumento da capacidade de digestão e de absorção do intestino, que ocorrem por aumento da produção de enzimas digestíveis. Essas alterações irão proporcionar um aumento na área de superfície de digestão e absorção (MURAROLLI, 2008).

Entretanto, os processos de absorção são dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal. O desenvolvimento da mucosa é estimulado por agentes tróficos, ou seja, aqueles que estimulam o processo mitótico na região cripta-vilosidade,

e como consequência há o aumento do número de células e tamanho da vilosidade (MACARI e MAIORKA, 2000). Primariamente há 2 eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação das células totipotentes localizadas na cripta e ao longo das vilosidades) e, perda de células por descamação que ocorre naturalmente no ápice das vilosidades (MAIORKA, 2001). Em frangos de corte essa renovação celular é de 72 a 96 horas (MURAROLLI, 2008), ou seja, aproximadamente 4 dias. Este período de tempo parece curto, contudo, considerando o tempo de criação do frango representa nada menos do que 10% do tempo de vida da ave. Assim, se considerarmos uma perda de 10% em nosso sistema de produção devido a distúrbios da mucosa intestinal, em um lote de 20 mil aves, teríamos uma quebra de nada menos do que 5 toneladas de peso/lote (FURLAN, 2010).

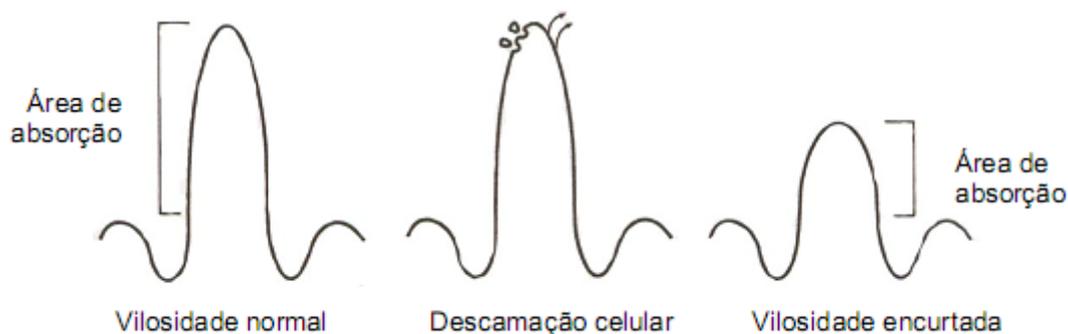


Figura 2: Diminuição da área de absorção intestinal por perda de enterócitos maduros da extremidade das vilosidades (HERDT, 1999).

O equilíbrio entre os dois processos (perda e proliferação celular) determina um *turnover* (proliferação – migração – extrusão) e assegura a manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio. No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador a favor de um deles ocorre uma modificação na altura das vilosidades (UNI et al., 1996). Se ocorrer um aumento na taxa de proliferação (mitose) com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão (perda celular) haverá um aumento no número de células e, conseqüentemente, observa-se um aumento na altura e densidade das vilosidades e microvilosidades, resultando em maior taxa de digestão e absorção. Logo, caso ocorra um aumento na taxa de extrusão (perda celular), haverá uma redução no tamanho das vilosidades e ocorrerá um aumento na produção de células da cripta, com conseqüente aumento na profundidade de cripta (MAIORKA, 2001).

Em frangos, o crescimento das vilosidades do duodeno está quase completo por volta de sete dias pós-eclosão, já as vilosidades do jejuno e íleo continuam crescendo até o 14º dia de idade. Esse desenvolvimento pode ser afetado por fatores como hormônios, características químicas dos nutrientes e a microflora intestinal (ANDRADE, 2002; MAIORKA, 2002).

É sabido que os carboidratos são absorvidos sob a forma de monômeros, glicose, e as proteínas de aminoácidos, cujo processo é sódio dependente e ocorre através de transportadores de membrana. Os lipídeos, absorvidos sob a forma de ácidos graxos livres, também depende da atividade de transportadores de membrana. Assim, a integridade das células que compõem a mucosa intestinal é de fundamental importância para a absorção dos nutrientes (FURLAN, 2010).

No duodeno, as vilosidades são mais longas e digitiformes, no jejuno e no íleo podem ser lameliformes com aspecto foliáceo (BOLELI, MAIORKA e MACARI, 2002). Sendo assim, aves que possuem vilosidades maiores terão uma melhor absorção de nutrientes. Além disso, a replicação dos enterócitos ocorre nas criptas, com grande capacidade mitótica, com isso, à medida que as células das glândulas intestinais se multiplicam e migram para a base da vilosidade, empurrando as outras células vilosas subsequentes, de forma que há uma contínua progressão de células migrando para cima na vilosidade (CUNNINGHAM, 2004).

As células caliciformes presentes nas vilosidades e criptas, também possuem importante papel na manutenção e desenvolvimento do epitélio intestinal. Estas são secretoras de muco, possuem função de proteger e lubrificar o epitélio durante a digestão dos alimentos. Outro papel importante do muco é na proteção contra infecções, ao funcionar como uma barreira protetora dificultando o contato de microrganismos com as células epiteliais. Portanto, as células caliciformes aumentam a produção de muco em caso de jejum ou alterações na dieta, pois estas situações podem ocasionar redução na camada de muco e propiciar ação de bactérias e protozoários patogênicos que causam destruição da mucosa (FURLAN et al., 2004).

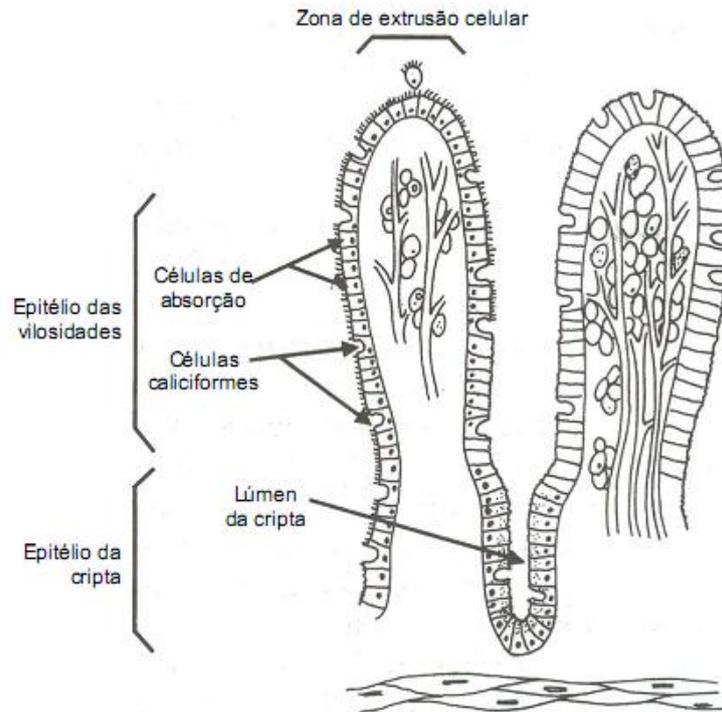


Figura 3: Representação esquemática do epitélio do intestino delgado: vilosidade e criptas intestinais (HERDT, 1999).

A camada de muco tem papel importante, também, na proteção contra infecções, pois funciona como barreira protetora que impede o contato de microrganismos com as células epiteliais. O muco do intestino delgado, ceco e cólon/reto contém uma rica população de bactérias e protozoários, as quais ligam-se às glicoproteínas e não sofrem aderência à mucosa. Os componentes da mucina funcionam como falsos receptores para os microrganismos, fazendo com que os mesmos sejam envolvidos pela camada de muco e não expressando sua capacidade patogênica (FURLAN, 2010).

Flemming (2005) relata que o aumento da produção de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico) e lactato, promovem a diminuição do pH do trato intestinal, com inibição de bactérias patogênicas e estímulo à proliferação de enterócitos, favorecendo assim a manutenção da integridade da mucosa intestinal e viabilizando a total capacidade de absorção intestinal das aves.

O intestino grosso tem um importante papel na recuperação de nutrientes, água e eletrólitos da digesta. A superfície da sua mucosa não apresenta vilosidades, mas apenas pequenas projeções que aumentam a sua área de superfície, e as suas glândulas

são em sua maioria glândulas produtoras de muco e não de enzimas. Assim, a digestão no intestino grosso ocorre por ação de enzimas ‘arrastadas’ com o material alimentar ou resultantes da atividade microbiana (MORAIS, 2009).

No intestino grosso, especialmente no ceco, existe uma complexa população de bactérias (incluindo *Lactobacillus*, *Streptococcus*, coliformes, bacteróides, *Clostridia* e leveduras, e que muda em resposta ao material disponível para fermentação) fomentada pela baixa velocidade do trânsito intestinal e abundância de fontes de nutrientes. Esta microflora metaboliza um largo espectro de fontes de nitrogênio e hidratos de carbono, resultando na formação de vários produtos como, por exemplo, *skatole*, amônia e Ácidos Gordos Voláteis (AGV – ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico). Os AGV são mesmo a maioria dos produtos finais resultantes da atividade microbiana sobre os polissacáridos (BREVES, KOCK e SCHRÖDER, 2007), e sendo absorvidos são uma fonte energética para o hospedeiro. A quantidade de AGV produzida no intestino grosso depende da quantidade e composição do substrato e da microflora presente (VAN BEERS-SCHREURS et al., 1998).

3.2.ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos se encontram amplamente distribuídos na natureza como constituintes habituais nos tecidos vegetais e animais. Também se produzem a partir da fermentação microbiana dos hidratos de carbono, principalmente no intestino grosso (SANCHÉZ, 2005).

Ácidos orgânicos são substâncias que contém uma ou mais carboxilas em sua molécula (PENZ et al., 1993). Nessa classificação podem ser incluídos os aminoácidos e os ácidos graxos. Em geral, quando o termo ácido orgânico é empregado na produção animal, refere-se aos ácidos fracos, de cadeia curta (C1-C7) (DIBNER e BUTTIN, 2002), que produzem menor quantidade de prótons por molécula ao se dissociarem. Por serem expressos logaritmicamente, uma unidade de pH acima do pKa de um ácido, indica que 90% do ácido encontra-se na forma não dissociada e, com duas unidades de pH acima do pKa, 99% do ácido estará não dissociado. Isso é particularmente importante no processo digestivo, pois na dependência do pH dos compartimentos digestivos haverá ação ou não do ácido em questão (SANCHÉZ, 2005).

Produzem acidez, a qual age como flavorizante, e retardam a ação enzimática e

o esvaziamento gástrico (RAVINDRAN e KORNEGAY, 1993), dando sensação de saciedade, são fonte de energia e estimulam reações metabólicas, aumento da digestibilidade de nutrientes e melhoram a morfologia intestinal (PARTANEN e MROZ, 1999). Agem diretamente como inibidores do crescimento bacteriano, podendo ser utilizados na conservação de grãos e alimentos, sanitização do alimento e aditivo promotor de crescimento em dietas para animais.

Outra característica importante dos ácidos orgânicos é a formação de quelatos, formando estruturas em forma de anel com íons metálicos. Eles previnem a reação dos íons metálicos, como Cálcio (Ca^{+2}) e Ferro (Fe^{+2}), Cobre (Cu^{+2}), Magnésio (Mg^{+2}), com outros nutrientes, aumentando a digestibilidade e a retenção desses, ao mesmo tempo em que inibem a sua ação como catalisadores de reações danosas (ADAMS, 1999).

Estes ácidos graxos devem estar na sua forma não dissociada (não-ionizada) para exercer seu efeito bactericida. Desta forma o ácido penetra na célula através da parede celular diminuindo o pH interno causando a lise da bactéria. Entre estes ácidos se encontram os de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), produzidos no cólon pela fermentação das fibras, as concentrações são mais altas no ceco, onde a quantidade de microflora são elevadas, sendo os níveis de pH mais baixos nesta região (SANCHÉZ, 2005).

Outra consequência negativa, para o microrganismo, é o aumento da pressão osmótica celular, que desencadeia mecanismos de compensação de carga elétrica obrigando o aumento dos níveis de sódio (Na^+), potássio (K^+) ou glutamato, levando ao aumento da força iônica intracelular, provocando um aumento da pressão mecânica sobre a parede do microrganismo, o que faz com que essa se rompa (VIOLA, 2006).

O efeito inibidor da proliferação de enterobactérias no trato digestório, provocado pela utilização do ácido orgânico na ração, promove um aumento de disponibilidade de nutrientes, potencializando os ganhos nutricionais das dietas (FREZZA, 2008; FARIA et al., 2009).

Os ácidos graxos de cadeia curta, incluindo o acético, o propiônico e o butírico são produzidos no ceco e cólon de animais não ruminantes pela fermentação de carboidratos e fibra da dieta não absorvida. O tipo de fermentação e a taxa de

fermentação podem influenciar as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta no lúmen e a proporção relativa dos ácidos individuais. As taxas nas quais os ácidos são transportados através da mucosa do intestino grosso é dependente da concentração, sugerindo que o aumento da produção resulta em maior disponibilidade desses compostos para as células intestinais e outros tecidos (RUPIN et al., 1980; FLEMING et al., 1991; FLEMING, 1993).

3.3. FORNECIMENTO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA AVES

O procedimento de adicionar ácidos orgânicos nas dietas tem sido empregado em dietas de leitões há mais de uma década, atualmente pode ser considerado como uma prática comum nas dietas para leitões (ADAMS, 1999). Para o uso de ácidos orgânicos em dietas de frangos há necessidade de adaptações, visto que existem diferenças anatômicas e fisiológicas essenciais nos sistemas digestivos das aves. Devem ser considerados os aspectos ligados aos menores comprimento e tempo de passagem do alimento no trato digestivo das aves, a maior capacidade secretória de pepsinogênio e ácido clorídrico no proventrículo (LONG, 1967), a atividade das enzimas desde o primeiro dia de vida (PROTECTED, 2004) e ainda devido à capacidade de refluxo de alimentos para adicioná-los de doses extras de enzimas e ácido clorídrico (KLASING, 1998).

Diferentemente dos mamíferos, nas aves, o HCl e o pepsinogênio são secretados pelas glândulas exócrinas principais do proventrículo (RUTZ, 1994). Uma vez que em aves a acidificação é feita naturalmente a partir do primeiro dia de idade, a estratégia da acidificação deve ser fornecer uma concentração adequada de ácido orgânico visando acidificar para reduzir a microbiota patogênica do trato digestivo até a fase final de produção (42 dias), utilizando-se ainda doses adicionais pelo modo de ação dos ácidos orgânicos (BELLAVIER e SCHEUERMANN, 2004).

Em aves, as bactérias patogênicas atingem o trato digestivo após vencerem a barreira do papo (inglúvio). A existência de um ambiente ácido com pH baixo no papo é muito importante para impedir ou diminuir a colonização de patógenos no trato digestivo e a quantidade alta de *Lactobacillus* e pH baixo reduz a ocorrência de *Salmonella* (HINTON et al., 2000). O efeito antibacteriano é maior na parte

anterior do trato digestivo, ocorrendo recuperação dos ácidos fórmico e propiônico principalmente no papo e moela (THOMPSON e HINTON, 1997),

O uso de ácidos orgânicos, reduz as unidades formadoras de colônia de *Campylobacter* (CHAVEE-RACH et al., 2002) e do número total de coliformes e de *Escherichia coli* no duodeno, jejuno e ílio (IZAT et al., 1990) e o favorecimento no desenvolvimento de bactérias aeróbicas na água (CHAVEE-RACH et al., 2004).

A forma não dissociada dos ácidos orgânicos é absorvida pelo epitélio intestinal por difusão passiva ao longo de um gradiente eletroquímico favorável (VIOLA, 2006). Valores de pH dos segmentos intestinais das aves não são constantes e apresentam médias de 6,4 no duodeno, 6,6 no jejuno e 7,2 no íleo (STURKIE, 1986). Assim, os ácidos orgânicos com mais de um pKa ou a utilização de misturas de ácidos orgânicos com vários pKa potencialmente mantém sua atuação em maior extensão intestinal (VIOLA et al., 2008). Nessa faixa de pH 90% dos ácidos graxos de cadeia curta está dissociado. No entanto, existe um microambiente ácido na superfície do que torna a difusão possível (VON ENGELHARDT et al., 1989).

Leeson et al. (2005) verificaram que a adição de ácido butírico na dieta auxilia na manutenção da estrutura das vilosidades. Os ácidos acético, propiônico e butírico têm ação trófica sobre a estrutura e o desenvolvimento intestinais, aumentando o tamanho das vilosidades, a massa intestinal e a área superficial para absorção (SAKATA, 1987). Chavee et al. (2004) não observaram benefício da adição de ácidos orgânicos em lesões epiteliais no intestino de frangos de corte.

Em aves, o uso de ácidos orgânicos tem como principal objetivo a ação antimicrobiana no trato gastrointestinal. Além disso, por possuírem valor energético, também favorecem a nutrição animal (VIOLA et al., 2008).

3.4. BUTIRATO DE SÓDIO

O butirato de sódio (BS) tem como fórmula molecular, $C_4H_7O_2Na$. É um sal derivado do ácido butírico e funciona e atua como um acidificante. É muitas vezes utilizado como substituto do ácido butírico, uma vez que é sólido, estável e tem um odor muito menos intenso. Este acidificante pode ser utilizado na sua forma livre ou na sua

forma protegida (microencapsulada). O butirato microencapsulado atua na parte posterior do trato gastrointestinal (VAN IMMERSEEL et al., 2004), enquanto que este composto ao não ser protegido, afetará diretamente a parte proximal do trato digestivo (HUME et al., 1993; THOMPSON e HINTON, 1997). O BS é rapidamente absorvido, sendo uma fonte de energia disponível para os colonócitos e a parte remanescente fica disponível para a fermentação bacteriana.

O BS tem uma importante função reguladora na proliferação e diferenciação celular (SENGUPTA et al., 2006). O BS tem também um papel importante na promoção da absorção de água e de sódio (BOND et al., 1976). Modula a microflora intestinal (GÁLFI et al., 1990; CASTILLO et al., 2006), dependendo a sua ação da adaptação bacteriana a variações da acidez no quimo (MROZ et al., 2006).

Perez de Rozas et al. (2004) e Castillo et al. (2006) observaram que dietas com BS promovem elevada diversidade na microflora do trato gastrointestinal, em particular nas partes caudais do intestino. A diversidade microbiana é uma medida da quantidade dos diferentes microrganismos detectados; também funciona como um indicador da estabilidade da microbiota intestinal (ZOETENDAL et al., 2004). Uma elevada biodiversidade microbiana produz um efeito benéfico nas performances animais porque, previne a proliferação de grupos simples de bactérias (JENSEN et al., 2003).

Apesar dos ácidos orgânicos indissociados poderem atravessar a membrana e serem absorvidos pelo intestino delgado, dificilmente chegarão ao intestino grosso, a não ser que sejam microencapsulados (PIVA et al., 1997).

3.5. ENZIMOLOGIA

Cada célula de um órgão possui uma função específica e contém enzimas destinadas a auxiliar nesta função. Em muitas situações as enzimas são específicas de um único órgão, em outros casos estas enzimas são encontradas em inúmeros órgãos. Quando a integridade da célula é comprometida, as enzimas vazam para circulação, onde sua atividade pode ser medida obtendo-se o índice de lesão celular (HOCHLEITHNER, 1994).

Segundo o mesmo autor, para ter importância diagnóstica, deve ocorrer a realização de testes ordenados, sendo que a viabilidade econômica do teste e

acapacidade de fornecer indícios de alterações patológicas em um órgão específico ou de um pequeno grupo de órgãos também devem ser considerados. A enzima deve também ser estável na amostra, por tempo suficiente para permitir sua detecção.

Segundo Hocheleithner (1994) e Krammer e Hoffmann (1997), enzimas com elevadas concentrações nos órgãos, mas com uma meia-vida curta, são de valor clínico limitado, pois possuem um rápido desaparecimento do plasma. Entende-se por meia-vida de uma enzima, o tempo necessário para que se reduza pela metade a concentração da mesma no plasma.

Amostras de sangue com EDTA não são ideais para dosagem enzimática, pois o EDTA age como quelante de alguns íons metálicos que servem para máxima atividade das enzimas. O plasma e as células devem ser separados imediatamente, para que se evite o extravasamento de enzimas intracelulares para o plasma. Igualmente, se os elementos são separados do plasma e este congelado, descongelado e armazenado sob refrigeração por muitos dias, pode ocorrer uma queda significativa nos níveis enzimáticos (MORAES, 2004).

A atividade enzimática nos tecidos ou soro geralmente é baixa, sendo que esta não é diretamente ligada à quantidade presente no tecido. Por esta razão, as enzimas são medidas indiretamente, baseando-se na sua atividade *in vitro* sob condições específicas e controladas, sendo sua atividade diretamente proporcional à concentração enzimática. Existe uma infinidade de métodos usados por diferentes laboratórios para detectar a atividade enzimática. Com isso, o intervalo de referência varia entre laboratórios, apesar de todos os resultados serem expressos em U/L. O valor dos testes varia de acordo com o substrato, *buffer* e temperatura de incubação utilizados nos laboratórios (HOCHLEITHNER, 1994).

Segundo Lumeij (1994), para facilitar a interpretação do quadro é aconselhável incluir na bioquímica plasmática indicadores sensíveis e específicos de lesão hepática e muscular. Eles devem ser influenciados pela elevação da atividade das enzimas plasmáticas, como sinal de lesão celular recente e não necessariamente como sinal de comprometimento da função do órgão. Muitas enzimas não são específicas de um único órgão, além disso, em condições crônicas, tendo ocorrido lesões muito extensas no passado, pode ter induzido uma maior disfunção do órgão enquanto as enzimas podem estar dentro de padrões normais. Isso é comum em aves com fibrose hepática onde encontra-se níveis normais de aspartato aminotransferase (AST). Quando

testesperiódicos de bioquímica sérica são realizados em aves com doença hepática, flutuaçõesdas enzimas e dos sais biliares são frequentemente observados. Ocasionalmente ambasvariáveis podem ser encontradas dentro dos intervalos de referência.

3.6.ENZIMA ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)

A AST faz parte de um grupo de enzimas que catalisam a interconversão dosaminoácidos e oxiácidos por transferência do grupo amino (HOCHLEITHNER, 1994).Segundo Krammer e Hoffmann (1997), a AST (*aspartate aminotransferase*) ouGOT (*Glutaminoxalacetic transaminase*), catalisa a transformação da L-aspartato e 2-oxoglutarato em oxalacetato e glutamato.

Duas isoenzimas da AST estão presentes no hepatócito, uma na mitocôndria eoutra no citoplasma (TENNANT, 1997), sendo que as duas enzimas têm massa de92Kda e múltiplas formas translacionais (KRAMMER e HOFFMANN, 1997).

Ainda segundo os autores, a presença da AST em muitos tecidos faz destaenzima um marcador não específico, mas altamente sensível indicador de leve lesãotecidual. Lumeij (1994) diz que a AST é o mais sensível indicador de lesão hepática empombos, não sendo sua atividade específica de lesão hepática, pois elevações podem servistas em casos de lesão muscular.

Lumeij (1997) diz que a distribuição da AST varia entre os órgãos e espéciesanimais. Altas atividades de AST têm sido descritas no fígado, músculo esquelético ecardíaco, cérebro, rins (HOCHLEITHNER, 1994), pâncreas e eritrócitos (TENNANT, 1997). Lumeij (1997) afirma que geralmente o aumento nas concentrações enzimáticasé uma medida de lesão tecidual recente e diminuição da função do órgão. A atividadebasal da enzima no plasma é geralmente um reflexo do acúmulo e da mudança sofridapelo tecido que contém esta enzima. Entretanto, na doença hepáticacrônica, com fibrose e redução do número de hepatócitos funcionais, os níveisenzimáticos para função hepática podem estar dentro dos parâmetros normais, apesar dasevera lesão do órgão.

Os valores da AST são idade-dependentes e variam entre asdiferentes espécies. A causa desta dependência ainda não foi estabelecida e diferençasde gêneros não foi descrita. Em geral, atividade de AST de pássaros acima de 230 U/I éconsiderada anormal. Atividades anormais têm sido ligadas à deficiência de vitamina E,Selênio,

metionina, doenças hepáticas, intoxicações por pesticidas e tetracloreto de carbono e lesões musculares (MOARES, 2004).

3.7. SISTEMA IMUNOLÓGICO

Segundo Sakamoto (2005), o sistema imune apresenta uma interação mais complexa da biologia, envolvendo o sistema celular e humoral. De maneira geral os componentes do sistema imune têm que reconhecer o antígeno; processar e apresentar este invasor aos tipos apropriados de células do sistema imune; organizar uma resposta eficiente, eliminar o antígeno; e desenvolver uma memória que permita uma ação mais efetiva no próximo contato com o antígeno previamente reconhecido.

As células precursoras dos linfóides oriundas do omento, do fígado fetal e eventualmente da medula óssea, migram para os órgãos linfóides, onde sofrem o processo de maturação, então esses linfócitos se dividem em duas populações distintas: células T e as células B, dependendo de qual órgão linfóide primário foi responsável pelo seu amadurecimento (TIZARD, 1998).

As células T são oriundas do timo; parte desta é liberada na circulação onde irão colonizar os órgãos linfóides secundários e participar de processos imunológicos do tipo reatividade cutânea tardia (imunidade celular); a bursa de *Fabrycius* é encontrada somente nas aves e apresenta-se como um saco redondo logo acima da cloaca, além de desenvolver as células B, que são responsáveis pela produção específica de anticorpos (imunidade humoral), também podem capturar antígenos, junto com o timo, alcança o seu maior tamanho no pintinho em uma a duas semanas após a eclosão, sofrendo posteriormente uma involução gradual (TIZARD, 1998)

Assim como em outras espécies, os primeiros sítios de desafio antigênico nas aves são as mucosas, especialmente as do trato digestivo e respiratório. Esses sítios possuem tecidos linfóides especiais associados a mucosas, denominados GALT (“Gut Associated Lymphoid Tissues”) e BALM (“Bronchio Associated Lymphoid Tissues”), nos quais são geradas as respostas imunes humorais e celulares para a proteção das superfícies mucosas, e especial produção de anticorpos do tipo IgA (CARON, 2008), que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal, além disso, produzem ativação de macrófagos e proliferação de células T (SILVA, 2000).

O sistema imunológico das aves apresenta diferença com as outras espécies pela precocidade na formação e maturação do sistema imune, uma vez que as células da resposta adaptativa são oriundas de órgãos primários, como o timo e a bursa de *Fabricius*. A receptividade do timo embrionário, por volta dos seis dias de incubação, e da bursa de *Fabricius*, por volta dos dez, permite a formação destes linfócitos, que na vida embrionária são morfológicamente iguais aos das aves pós nascimento, mas que ainda têm funcionalidade limitada (CARON, 2008). E os órgãos linfóides secundários (baço, medula, tonsilas cecais, GALT, respiratório e urogenital) ainda estão incompletos na eclosão, assim podem ser influenciados pela nutrição (DIBNER e RICHARDS, 2004)

A chegada de células-tronco na bursa de *Fabricius* ocorre entre 8 e 14 dias de desenvolvimento embrionário(DE), a proliferação dessas das células se inicia aos 12 dias de desenvolvimento embrionário e continua por várias semanas após a eclosão, enquanto a emigração das células maduras começa aos 18 dias de (SCOTT, 2004).

5. REFERÊNCIAS

- ADAMS C. **Book Nutricines: Food Components in Health and Nutrition**. Nottingham University Press. 1999.
- ALVARENGA, B. O.; BELETTI, M. E.; FERNANDES, E. A.; SILVA, M. M.; CAMPOS, L. F. B.; RAMOS, S. P. Efeitos de fontes alternativas de fósforo nas rações de engorda e abate sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 3, p. 55-59, 2004.
- ANDRADE, M. L. **Níveis de proteína e de aminoácidos em rações pré-iniciais e seus efeitos sobre o desempenho, digestibilidade, órgãos digestivos e enzimas pancreáticas de frangos de corte**. Goiânia, 2002. 43p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás, 2002.
- ARTONI, S. M. B. Anatomia do sistema digestório das aves. **In: Curso de Fisiologia da Digestão e Metabolismo de Nutrientes em Aves**, UNESP Jaboticabal, out. 2004. 1 CD-ROM.
- BANKS, W. J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p
- BELLAVER, C.; SCHEUERMANN, G. Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte. **In: CONFERENCIA AVISUI 2004**. Florianópolis SC. 2004, p. 1-16.
- BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. **In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed.). Fisiologia Avícola Aplicada a Frangos de Corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 75-95.
- BOND, J. H.; LEVIT M. D. Fate of soluble carbohydrate in the colon of rats and man. **J. Clin Invest**. 57:1158-1164. 1976.
- BREVES, G.; KOCK, J.; SCHRÖDER, B. Transport of nutrients and electrolytes across the intestinal wall in pigs. **Livest. Sci.** 109, 4–13. 2007.
- CARON, L. F. O sistema imune das aves e a resposta às vacinações. **In: Curso de sanidade avícola**, Jaguariúna, SP. **Anais...** Jaguariúna: 2008.
- CASTILLO, M.; MARTIN-ORÚE S. M.; ROCA M.; MANZANILLA E. G.; BADIOLA I.; PEREZ J. F.; GASA J. The response of gastrointestinal microbiota to the use of avilamycin, butyrate, and plant extract in early-weaned pigs. **J. Anim. Sci.** 84:2725-2734. 2006.
- CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; LIPMAN, L. J. A.; VAN KNAPEN, F. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. **Poultry Science**, v. 83, p. 330-334, 2004.

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; URLINGS, H. A. P.; LIPMAN, L. J. A.; KNAPEN, F. *In vitro* study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. **Poultry Science**, v. 81, p. 621-628, 2002.

CUNNINGHAM, C.H. **Virologia practica**. 6th Edn. Acribia, Zaragoza, pp: 26. 1971.

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.

FARIA, D. E.; HENRIQUE, A. P. F.; FRANZOLIN NETO, R.; MEDEIROS, A. A.; JUNQUEIRA, O. M.; FARIA FILHO, D. E. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 29-39, 2009.

FLEMMING, J. S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

FLEMING, S.E. Influence of dietary fiber on the production, absorption or excretion of short chain fatty acids in humans. In: SPILLER, G.A. (Ed.) **CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1993. p.387–412.

FLEMING, S.E.; CHOI, S.Y.; FITCH, M.D. Absorption of short-chain fatty acids from the rat cecum in vivo. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.121, p.1787–1797, 1991.

FREZZA, A. L. C. **Probióticos na ração de frangos de corte e sua influência no pH do ingluvio e na microbiota intestinal**. Dissertação, 2008, 37 f. Mestrado (Ciências Veterinárias – Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPOSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú, 2004, p. 6-28.

FURLAN, R.L. **Aspectos fisiológicos da utilização de probióticos e prebióticos visando a saúde intestinal**. Memórias. 2010.

GÁLFI, P.; BOKORI, J. **Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate**. *Acta. Vet. Hung.* 38(I-2):3-17. 1990.

GARTNER L. P.; HIATT J. L. **Tratado de histologia**, Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 426 p.

HERDT, T. Fisiologia Gastrointestinal y Metabolismo. In: Cunningham, J.D. (Coord.), *Fisiologia Veterinaria*, 2ª ed., México, McGraw-Hill Interamericana Editores, pp. 293-431. 1999

HOCHLEITHNER, M. Biochemistry. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.;

- HARRISON, L. R. **Avian Medicine: principles and application**, Florida:Wingers, 1994, p.229.
- HUME, M. E.; CORRIER, D. E.; IVIE, G. W.; DELOSCH, J. R. Metabolism of [14 C] propionic acid in broiler chicks. **Poult. Sci.** 72:786-793. 1993.
- IZAT, A. L.; TIDWELL, N. M.; THOMAS, R. A.; M. A.; ADAMS, M. H.; COLBERG, M.; WALDROUP, P. W. Effects of buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on microflora of the intestine and carcass. **Poultry Science**, v. 69, p. 818-826, 1990.
- JANSSENS, G.; NOLLET, L. Sodium butyrate in animal nutrition. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002, Uberlândia, MG. **Anais...**Uberlândia: CBNA, 2002. p. 239-250.
- JENSEN, B. B.; HOJBERG, O.; MIKKELSEN, L. L.; HEDEMAN, M. S.; CANIBE, N. **Enhancing intestinal function to treat and prevent intestinal disease**. Vol. 1, 103-120. 9th Int. Symp. Dig. Physiol. Pigs, Banff, Canada. R. O. Ball, ed. Univ. Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. 2003.
- KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzymology In: KANEKO, J. J., HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed.. San Diego: Academic Press, 1997. p. 303-323.
- LEANDRO, N. S. M.; OLIVEIRA, A. S. C.; CAFÉ, M. B.; GONZALES, E.; STRINGHINI, J. H.; CARVALHO, F. B.; ANDRADE, M. A. 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, out./dez. 2010
- LEESON, S.; NAMKUNG, H.; ANTONGIOVANNI, M.; LEE, E. H. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, p. 1418-1422, 2005.
- LESSON, S.; SUMMERS, J. D. **Broiler breeder production**. Guelph, Ontario: University Books, 2000. p. 68, 91.
- LUMEIJ, J. T. Hepatology. In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**, Florida:Wingers publishing, 1994. p.522-537
- LUMEIJ, J. T. Avian clinical biochemistry In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 857-879.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E.; BORGES, S.A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Influência suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, 2000.
- MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas:

FACTA, 2001. v. 2, 141-151.

MAIORKA, A. **Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte.** Jaboticabal, 2002. 103p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista, 2002

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v. 2, p. 455-457.

MORAIS, S. C. F. Utilização de dois teores de butirato no regime de desmame do leitão. **Dissertação.** Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, Portugal, 2009.

MORAES, L.B. **Estabelecimento de escores histopatológicos de lesão hepática e determinação dos valores normais das enzimas aspartato aminotransferase e creatina quinase em frangos de corte.** 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MROZ, Z.; KOOPMANS, S. J.; BANNINK, A.; PARTANEN K.; KRASUCKI, W.; OVERLAND, M.; VRADCLIFFE, S. Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. In: Mosenthin R., Zebrowska T., (ed.) *Biology of the intestine.* Amsterdam: Elsevier, 81-133. 2006.

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.

NITSAN, Z. “The Development of Digestive Tract in Posthatched Chicks”. In: European Symposium on Poultry Nutrition, 10, 1995, Antalya. **Anais.....**Antalya: European Poultry Science Association, pp 21-28, 1995.

PARTANEN, K.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.12, n.1, p.117-145, 1999.

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

PEREZ DE ROZAS, A. M.; MARTIN-ORÚE S. M.; ROCA, M.; BADIOLA I.; PEREZ J. F.; CAMPOY, S.; BARBÉ, J. Characterization of the microbial diversity of pig intestinal tract by restriction fragment length polymorphism. **Reprod. Nutr. Dev.** 44 (Suppl. 1):S10. 2004.

- PIRES, A. L. G.; SILVEIRA, T. R.; SILVA, V. D. Estudo morfométrico e estereológico digital da mucosa do intestino delgado de crianças eutróficas e desnutridas com diarreia persistente. **Jornal Pediatria**, Rio Janeiro, 2003; 79(4):329-36
- PIVA, A.; ANFOSSI, P.; MEOLA, E.; PIETRI, A.; PANCIROLI, A.; BERTUZZI, T.; FORMIGONI, A. Effect of microencapsulation on absorption process in swine. **Livest. Prod, Sci.** 51:53-61. 1997.
- RAMOS, L. S. N. Aditivos alternativos a antibióticos em rações para frangos de corte. **Tese**. UFPI. Teresina, Piauí. 2009.
- RAVINDRAN, V.; KORNEGAY, E. T. Acidification of weaner diets: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Edinburgh, v. 62, p. 1880-1886, 1993.
- REECE, W. O. **DUKES-Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 942p.
- 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.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. **Tabela Brasileira para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa-MG: UFV-Departamento de Zootecnia, 90 p, 2005.
- RUPPIN, H.; MEIR, S.; SOERGEL, K.H.; WOOD, C.M.; SCHMITT, M.G. Absorption of short chain fatty acids by the colon. **Gastroenterology**, New York, v. 78, p. 1500-1507, 1980.
- SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Institute Incorporation. **SAS User's guide: statistics**. 8 ed. [S.1], 2001.
- SCOTT, T. R. Our current understanding of humoral immunity of poultry. **Poultry Science**, v. 83, p. 574-579, 2004.
- SAKAMOTO, M.I. **Influência da glutamina e vitamina E sobre o desempenho, resposta imunológica e morfometria intestinal de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.
- SAKATA, T. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors. **British Journal of Nutrition**, London, v. 58, n. 95, p. 95-103, 1987.
- SENGUPTA, S.; MUIR, J. G.; GIBSON, P. R. Does butyrate protect from colorectal cancer? **J. Gastroenterol. Hepatol.** 21:209-18. 2006.
- SESTI, L.A.C. Biossegurança em um programa de melhoramento genético de aves. II Simpósio de Sanidade Avícola. **Anais...** Santa Maria, RS. 2000.

SILVA, E.N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, **Anais...** Campina, São Paulo. V. 2, p. 241-251. 2000.

SISSON, S. **Anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, v.2, p. 1676-1962, 1986.

SMIRNOV, A.; SKLAN, D.; UNI, Z. Mucin dynamics in the chick small intestines are altered by starvation. **J. Nutr.** 134:736-742. 2004.

TENNANT, B. C. Hepatic Function In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed.. San Diego: Academic Press, 1997. p.327-349.

THOMPSON, K.; HINTON, M. Anti bacterial activity of formic acid and propionic acid in the diets of hens on *Salmonella* in the crop. **Br Poult Sci** 1997; 38: 59-65.

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária**. Editora Roca Ltda. 1998.

VAN BEERS-SCHREURS, H.M.G.; NABUURS, M.J.A.; VELLENGA, L.; KALSBECK-VAN DER VALK, H.J.; WENSING, T.; BREUKINK, H.J. Weaning and the Weanling Diet Influence the Villous Height and Crypt Depth in the Small Intestine of Pigs and Alter the Concentrations of Short-Chain Fatty Acids in the Large Intestine and Blood. **J. Nutr.** 128, 947-953. 1998.

VAN IMMERSEEL, V.; FIEVEZ, J.; BUCK, F.; PASMANS, A.; MARTEL, F.; HAESBROUCK, R. *et al.* Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poult Sci** 2004; 0. 83:69-74.

VIOLA, E. S. Usode acidificantes em dietas de frangos de corte: resíduos no trato digestivo e efeitos sobre o desempenho animal e morfologia intestinal. Tese. UFRS. Porto Alegre, Rio Grande do Sul. 2006.

VON ENGELHARDT, W.; RÖNNAU, K.; RECHKEMMER, G.; SAKATA, T. Absorption of short-chain fatty acids and their role in the hindgut of monogastric animals. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.23, p.43-53, 1989.

Capítulo 1

Níveis séricos de enzimas de função hepáticas em frangos de corte suplementados com Butirato de sódio microencapsulado

Serum liver function enzymes in broilers supplemented with microencapsulated sodium butyrate

Maria Edna Gomes de Barros¹ & Joaquim Evêncio Neto^{2*}

¹Estudante de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco;

²Professor Associado do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

*evencio@dmfa.ufrpe.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis séricos de enzimas de função hepáticas em frangos de corte suplementados com Butirato de sódio microencapsulado. Foram utilizados 720 pintinhos com um dia de vida, distribuído em dois grupos: Controle e Tratado (BS). A cada semana, do 7º ao 35º dia de idade, duas aves por parcela experimental foram pesadas e coletado de cada ave 3 ml de sangue, em seguida foram eutanasiadas por deslocamento cervical, coletado e pesado o fígado, do qual foram obtidos fragmentos para avaliações. Os soros obtidos foram acondicionados em microtúbulos e congelados a -20°C. Todas as aves foram numeradas e seus soros acondicionados e processados individualmente. Os soros foram analisados pelo método colorimétrico, através da utilização de Kits comerciais: AST/TGO Liquiform-Labtest e ALT/TGP Liquiform-Labtest. Também foram avaliados os índices de desempenho zootécnico, tais como: conversão alimentar, ganho de peso diário, consumo diário de ração e a viabilidade das dietas. Os resultados mostraram que os índices zootécnicos ficaram dentro da média brasileira para a criação de frangos de corte em sistema industrial. Os valores encontrados da glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) ou aspartato amino-transferase (AST) no tecido hepático dos animais foram, no Grupo Controle: 80-557 no 7º dia; 50-695 no 14º dia; 162-478 no 21º dia; 125-326 no 28º dia e 259-378 no 35º dia e no grupo BS foram: 141-565 no 7º dia; 58-702 no 14º dia; 107-589 no 21º dia; 121-724 no 28º dia e 163-544 no 35º dia. Na análise de

alaninaaminotransferase os valores encontrados foram: Grupo controle: 10-53, 4-18, 23-151, 11-30 e 23-35 e no Grupo BS foram: 11-54, 3-68, 6-40, 11-82 e 17-60 no 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dias, respectivamente. O peso dos fígados não teve alteração nos grupos. Conclui-se que o Butirato de sódio não influenciou nos níveis das enzimas de função hepática estudadas, contudo o elevado valor da atividade enzimática pode ser a indicação das lesões do fígado em nível macroscópico.

Abstract

The aim of this study was to evaluate serum levels of liver function enzymes in broilers supplemented with microencapsulated sodium butyrate. 720 chicks were used on a day-life, distributed into two groups: Control and Treaty (BS). Each week, the 7th to 35th day of age, two birds per plot were weighed and collected from each bird 3 ml of blood, then were euthanized by cervical dislocation, collected and weighed the liver, which were obtained fragments for reviews. Sera obtained were stored in microtubules and frozen at -20 °C. All birds were numbered and their sera packaged and processed individually. Sera were analyzed by colorimetric method, by using commercial kits: AST / SGOT Liquiform-Labtest and ALT / SGPT Liquiform-Labtest. We also evaluated the growth performance indices, such as feed efficiency, average daily gain, feed intake and viability of diets. The results showed that the indexes were within the national average for the creation of broilers in the industrial system. The found values of glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) or aspartate aminotransferase (AST) in the liver tissue of the animals were in the control group: 80-557 on the 7th day; 50-695 on day 14; 162-478 in 21 days, at 125-326, and 259-378 28th day on the 35th day and the BS group were 141-565 on the 7th day; 58-702 on day 14; 107-589 on day 21; 121-724 on day 28 and 163 - 544 on the 35th day. In the analysis of alanine aminotransferase values were: control group: 10-53, 4-18, 23-151, 11-30 and 23-35 and the BS group were: 11-54, 3-68, 6-40, 11-82 and 17-60 at 7, 14, 21, 28 and 35 days, respectively. The liver weights did not change in groups. It was concluded that sodium butyrate did not affect the levels of liver function enzymes studied, but the high value of enzymatic activity can be an indication of liver damage in macroscopic level.

Keywords: Glutamate-oxaloacetate transaminase, glutamate-pyruvate transaminase; physiologyhepatocellular; sodium butyrate.

Introdução

Abuscapelamáximaeficiênciamentalmentenaavicultura éum pontocríticoaser considerado nas criações comerciais, existindo necessidade da busca por alimentos e suplementos que atendam as tendências de consumo, voltadas para satisfazer a necessidade de alimentos seguros com menores riscos à saúde humana. Os ácidos orgânicos proporcionam bons resultados e segurança, se comparado aos antibióticos. Os ácidos orgânicos têm um ótimo valor energético (mais de 10 MJ / kg por termo médio), totalmente metabolizado.

O butirato de sódio (BS) é um ácido orgânico de cadeia curta e quando microencapsulado é envolto por uma camada de ácidos gordos que garantem sua passagem pela maior parte do trato gastrointestinal com perdas mínimas, sendo só quebrado pelas enzimas do intestino grosso.

Na medida em que o organismo está processando certa quantidade de gordura que tomou como o alimento, os triglicerídeos ingeridos são hidrolisados e organizados em unidades lipoproteicas denominadas quilomicras (QM), sendo desta forma absorvidos pelo sistema linfático tendo assim acesso ao plasma. Além disso, a síntese de gorduras (lipogênese) ocorre no tecido adiposo e fígado, que são os tecidos lipogênicos que existem no organismo, sintetizando triglicerídeos que são secretados na corrente sanguínea para a utilização em outros tecidos (Riegel, 1996; Marzocco e Torres, 1999).

Nas aves, a lipogênese ocorre apenas no fígado; o tecido adiposo funciona apenas como reservatório lipídico, desta forma, alterações nos processos enzimáticos que regulam a síntese hepática podem ocasionar distúrbios no metabolismo das gorduras (O'Hea e Leveille, 1969; Tung et al., 1972; Leveille et al., 1975).

A fisiologia hepatocelular associa-se às transaminases, glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) ou aspartato amino-transferase (AST) e glutamato-piruvato transaminase (GPT) alanina aminotransferase (ALT), enzimas intracelulares, de rica concentração hepática, envolvidas no metabolismo de aminoácidos. Portanto, o teor proteico do fígado e a análise destas enzimas são recursos bioquímicos utilizados para verificar o bom funcionamento do órgão (Minafra et al., 2008).

Algumas transaminases são mitocondriais, algumas são citosólicas e outras são

presentes em ambos os compartimentos celulares (Swenson e Reece, 1996). A ALT está presente no citoplasma de hepatócitos (Scholtz et al., 2009) enquanto que a AST nas mitocôndrias (Bovera et al., 2007). São as transaminases mais importantes no diagnóstico de diversas alterações metabólicas (Coles, 1974). No fígado, essas enzimas desempenham importante papel no metabolismo de aminoácidos. A AST está frequentemente envolvida com a transaminação de aminoácidos glicogênicos para a produção de glicose e a ALT catalisa a transaminação de α -cetoglutarato e alanina formando glutamato e piruvato.

O objetivo do presente trabalho é avaliar se a administração contínua de butirato de sódio microencapsulado a frangos de corte provoca alterações a nível enzimático sérico (AST e ALT) que poderiam refletir o estado geral metabólico da ave e, nesse caso, indicando uma interferência benéfica ou adversa do tratamento.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Pequenos Animais de Carpina (EEPAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram utilizados 720 pintinhos com um dia de vida, alojados em 40 boxes experimentais medindo 1,5 m², com 18 aves cada, com densidade de 12 frangos/m², sobre cama de maravalha nova. Distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2x6, onde os fatores foram duas rações experimentais: Controle: Ração sem suplementação de butirato de sódio e Tratado (BS): Ração com suplementação de butirato de sódio (0,4 Kg/t de ração), com quatro repetições por tratamento e seis períodos de coleta 7, 14, 21 e 35 dias.

As rações foram produzidas em uma fábrica comercial, em condições especiais para esse experimento e sem adição de antibióticos, os misturadores foram limpos antes de cada mistura para garantir que não houvesse contaminação ou incremento de algum ingrediente indesejado. Todas as rações foram formuladas para atender as exigências nutricionais preconizadas por Rostagno et al. (2005) para as diferentes fases de desenvolvimento dos frangos (fase pré-inicial do 1º ao 6º dia, fase inicial do 7º ao 15º dia, fase crescimento do 16º ao 21º dia, fase engorda do 22º ao 35º dia e fase de engorda 36º dia ao 45º dia).

Com excessão da vacina contra a doença de Marek aplicada no incubatório, às aves só receberam a vacina contra a Doença de Newcastle (DNC) aos 14 dias de idade, que foi administrada por via ocular. As aves foram alojadas sobre cama de maravalha nova (primeiro lote), receberam água e ração à vontade e foram submetidas a 24 horas de luz/dia até o 7º dia de idade, e a 23 horas de luz/dia a partir do 8º até 42º dia.

Os frangos e as rações foram pesados no início de cada semana para determinação do consumo de ração, do ganho de peso e da conversão alimentar. Os dados referentes à mortalidade foram registrados diariamente.

A cada semana, do 7º ao 35º dia de idade, duas aves por parcela experimental foram pesadas e coletados de cada ave 3 ml de sangue através da veia ulnar, utilizando-se seringas descartáveis de 5 ml, e em seguida foram eutanasiadas por deslocamento cervical, coletado e pesado o fígado, do qual foram obtidos fragmentos para avaliações.

Após a obtenção dos soros através do processo de coagulação, os mesmos foram acondicionados em microtúbulos e congelados a -20°C. Todas as aves foram numeradas e seus soros acondicionados e processados individualmente, pelo método colorimétrico, através da utilização de “Kits” comerciais: AST/TGO Liquiform-Labtest e ALT/TGP Liquiform-Labtest. Os resultados foram analisados com o auxílio do programa estatístico ASSISTAT Versão 7.6 beta (2011).

Resultados e Discussão

O ganho de peso (Tabela 1) ficou dentro da média brasileira para a criação de frangos de corte em sistema industrial, descritos por Lana (2000). Não foram observadas alterações clínicas nas idades avaliadas.

Tabela 1. Pesos médios das aves nos grupos Controle e BS nas idades analisadas durante o experimento.

Idade das aves (dias)	Peso médio (g)	
	Controle	BS
7	141,00 ±13,24	133,18±15,25
14	347,40 ±44,38	316,69±47,02
21	686,50 ±95,18	704,00 ±77,40
28	1154,75±86,04	1061,88±111,72

35	1600,25±180,73	1595,50 ±182,93
----	----------------	-----------------

* Não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo.

Os valores encontrados da glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) ou aspartato amino-transferase (AST) no tecido hepático dos animais foram, no Grupo Controle: 80-557 no 7º dia; 50-695 no 14º dia; 162-478 no 21º dia; 125-326 no 28º dia e 259-378 no 35º dia e no grupo BS foram: 141-565 no 7º dia; 58-702 no 14º dia; 107-589 no 21º dia; 121-724 no 28º dia e 163-544 no 35º dia. (Tabela 2). Borsa et al. (2006), por sua vez, definiram os valores de 259-332, 208-251, 202-325, 126-200 e 162-221 para AST aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, respectivamente, e Minafra et al. (2008) os valores de 203-267, 251-375, 253-345 para AST aos 7, 14 e 21 dias de idade, respectivamente, e concluíram que os níveis da enzima não são afetados pela idade das aves, essa conclusão também é relatado por Saukas et al. (1994) e Fernandez et al. (1994).

Tabela 2. Níveis médios de AST e ALT nos grupos Controle e BS nas idades analisadas.

Idade das aves (dias)	AST (U/l)		ALT (U/l)	
	CONTROLE	BS	CONTROLE	BS
7	278,94±159,77	320±144,03	29,32±16,03aAB	36,95±14,38aA
14	247,25±280,36	289,68±214,55	8,75±56,52bB	29,16±20,62aA
21	369,8±184,85	350,13±171,57	52,73±41,96aA	21,88±12,86aB
28	227,55±69,68	385,15±261,82	18,94±5,39aB	31,15±27,76aA
35	304,86±45,54	327,14±129,14	27,33±3,79aAB	33,52±13,96aA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Letras minúsculas para linhas e maiúsculas para colunas). Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para AST não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo.

Com base nos resultados obtidos para a enzima aspartato amino-transferase, é possível verificar que para o soro, os valores foram semelhantes entre os grupos e idades estudadas, reforçando os dados encontrados por Borsa et al. (2006) e (2011).

Lumeij (1997) diz que a distribuição da AST varia entre os órgãos e espécies animais. Altas atividades de AST têm sido descritas no fígado, músculo estriado esquelético e cardíaco, cérebro, rins (Hochleithner, 1994), pâncreas e eritrócitos

(Tennant, 1997). Lumeij (1997) afirma que geralmente o aumento nas concentrações enzimáticas é uma medida de lesão tecidual recente e diminuição da função do órgão. A Atividade basal da enzima no plasma é geralmente um reflexo do acúmulo e da mudança sofrida pelo tecido que contém esta enzima. Os valores de AST são idade-dependentes e varia entre as diferentes espécies. Em geral, atividades de AST de pássaros acima de 230 U/l é considerada anormal. Moraes (2004) realizou um ensaio para determinar os valores normais de referência de AST em frangos de corte, e considerou que 175,24 U/l é o mínimo e 209U/l o máximo.

Neste trabalho os valores encontrados ficaram acima destes já descritos e podem sinalizar danos ao tecido hepático, pois o aumento da GOT é um indicativo bioquímico de alterações em hepatócitos. Contudo, Diaz et al. (1999) utilizaram duas linhagens de postura comercial com 33 semanas de idade, uma normal e outra com predisposição para o aparecimento da síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico, e observaram que aquelas com predisposição ao aparecimento da síndrome do fígado gorduroso e hemorrágico apresentaram níveis elevados de AST.

Segundo Bush (1991) e Willard et al.(1993) a enzima TGP ou ALT, é o melhor indicativo de dano hepático em pequenos animais, porém, nem sempre é um fator de verificação deste tipo de alteração em aves, portanto, tem valor limitado para o diagnóstico bioquímico nesta espécie animal.

Na análise de alanina aminotransferase os valores encontrados foram: Grupo controle: 10-53, 4-18, 23-151, 11-30 e 23-35 e no Grupo BS foram: 11-54, 3-68, 6-40, 11-82 e 17-60 no 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dias, respectivamente. Borsa et al. (2006) definiram valores para ALT no soro de 2-13, 9-22, 14-34, 16-40 e 21-34 para aves aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias, respectivamente, o que revela resultados divergentes quanto aos parâmetros bioquímicos de normalidade para esta enzima no tecido hepático. Todos os valores encontrados no grupo BS e a primeira e a terceira coleta do grupo controle mantiveram-se acima dos limites superiores considerados normais (Tabela 3), o que pode indicar possíveis alterações do fígado e de seu metabolismo nas aves analisadas. O aumento de ALT aos 21 dias no grupo controle talvez possa ser explicada pelo incremento calórico na ração, pela mudança de fase.

Sheid eHirschberg (1967) afirmaram que a atividade de AST é crescente a partir do nascimento até os sete dias de idade, permanecendo constante posteriormente. Nossos resultados contrariam as afirmações desses autores, sendo no primeiro dia de vida dosada a maior atividade sérica dessa enzima. Aos sete dias, já se notou uma queda acentuada na atividade enzimática, que permaneceu até os 43 dias de idade, com algumas oscilações. Não houve diferenças significativas entre as atividades enzimáticas de AST em soros das aves dos dois grupos.

A ALT em pequenos animais é muito útil para determinação de hepatopatias (Kramer, 1989). Em frangos de corte Chandraet al.(1983) reportaram elevação gradual da atividade de ALT acompanhando a evolução de nefrite e envolvimento de outros órgãos como fígado, intestinos, coração e musculatura esquelética. Ahmed et al. (1975) observaram curva de elevação significativa de atividade de ALT em soros de patos inoculados com vírus da hepatite. Porém, em caso de lesão hepática por histomoníase em frangos de corte e perus não ocorre diferença em ALT, apenas em AST, segundoMcdougald e Hansen (1970). Borsa et al. (2011) relataram não haver diferença significativa para ALT em frangos contaminados por aflatoxina.

Tabela 3. Pesos médios dos fígados das aves nos grupos Controle e BS nas idades analisadas.

Idade das aves (dias)	Peso médio dos fígados(g)	
	Controle	BS
7	7,78±1,58	5,96±0,68
14	13,45±2,94	12,76±3,42
21	22,58±3,82	20,43±3,8
28	30,34±4,47	30,17±3,44
35	41,36±7,54	42,02±8,48

*Não foi aplicado o teste de comparação de médias por que o F de interação não foi significativo.

Os pesos dos fígados (Tabela 3) nos grupos estudados não tiveram alteração ou relação significativa, contudo os fígados do grupo BS tiveram modificações macroscópicas, tais como: arredondamento e abaloamento dos lóbulos, deformação pela compressão nas costelas, perda da cor característica (tornando-se amarelado) e friável (Figura 1), entretanto, não foi observado alterações microscópicas relevantes no grupo

BS em relação ao grupo Controle (Figuras 2 e 3). De acordo com Hochleithner (1994) no caso de doença hepática, é comum observar um quadro histológico normal e valores bioquímicos significativamente aumentados, sendo que esta perda da integridade pode ser observada histologicamente como um aumento no volume celular, e isso explicaria a quantidade de vacuolização encontrada nos exames histopatológicos.

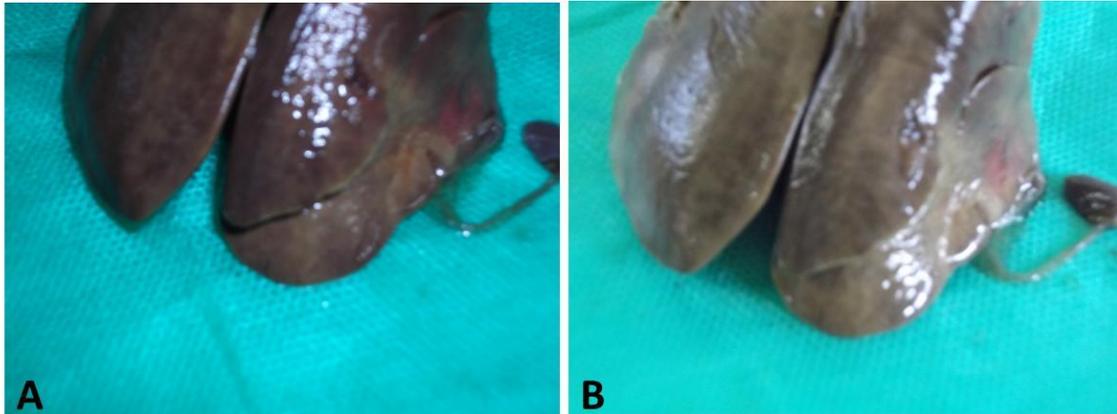


Figura 1: Fotografia dos fígados de aves : A) Grupo controle. B) Grupo suplementado com BS.

Segundo Krammer e Hoffmann (1997), o aumento de uma enzima em particular também depende de fatores como o seu padrão de produção, padrão de liberação e de permanência no plasma. Enzimas citoplasmáticas são liberadas mais rapidamente durante a degeneração celular, ao passo que enzimas mitocondriais serão liberadas mais tardiamente, somente após severa lesão do órgão.

Moraes (2004) analisando frangos de cortes provenientes de granjas comerciais com casos de aflatoxicose, também não encontrou uma relação entre os níveis séricos de AST em relação aos escores de lesões histopatológicas encontrados. Apenas que os níveis de aflatoxinas são inversamente proporcionais aos de escore das lesões.

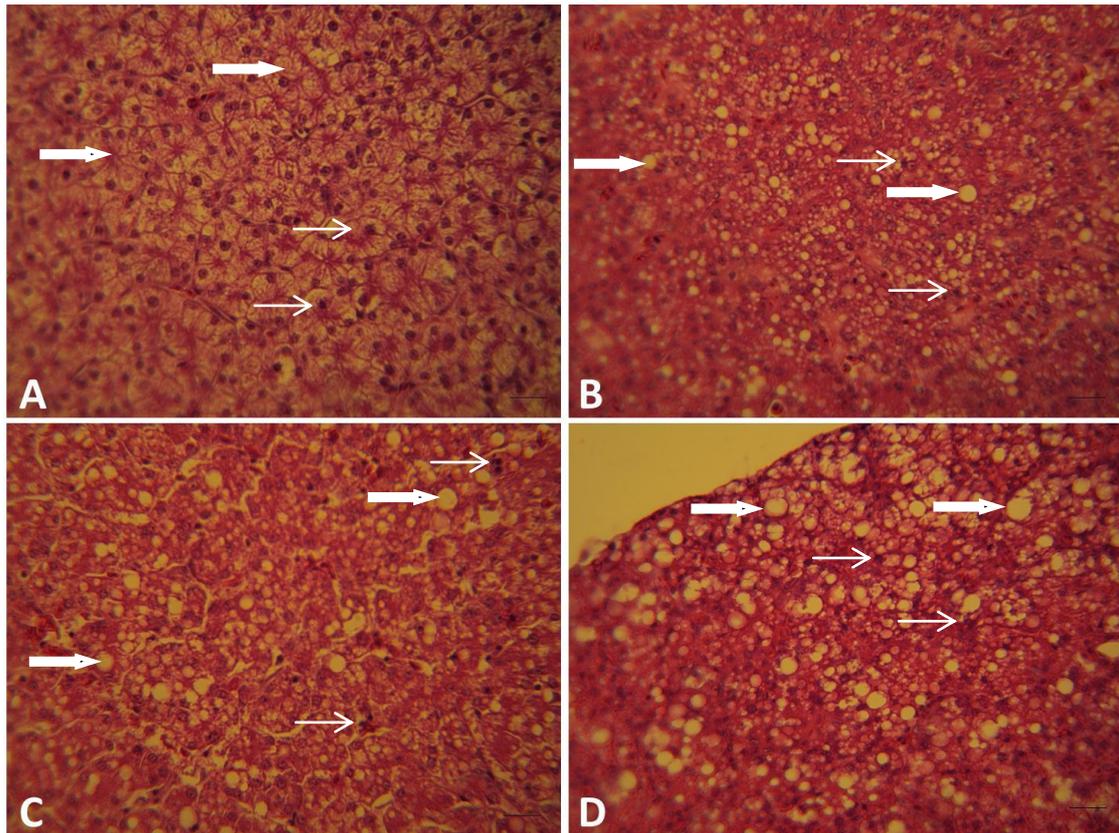


Figura 2: Fotomicrografias de aves, observar em: A) Grupo controle aos 7 dias, vacuolização com característica cística (seta cheia) e condensação dos núcleos (seta fina). B) Grupo tratado com BS aos 7 dias, vacuolização com característica lipídica (seta cheia) e poucos núcleos condensados (seta fina). C) Grupo controle aos 14 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica (seta cheia) e pouca condensação dos núcleos (seta fina). D) Grupo tratado com BS aos 14 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica (seta cheia) e poucos núcleos condensados (seta fina). Aumento de 400x.

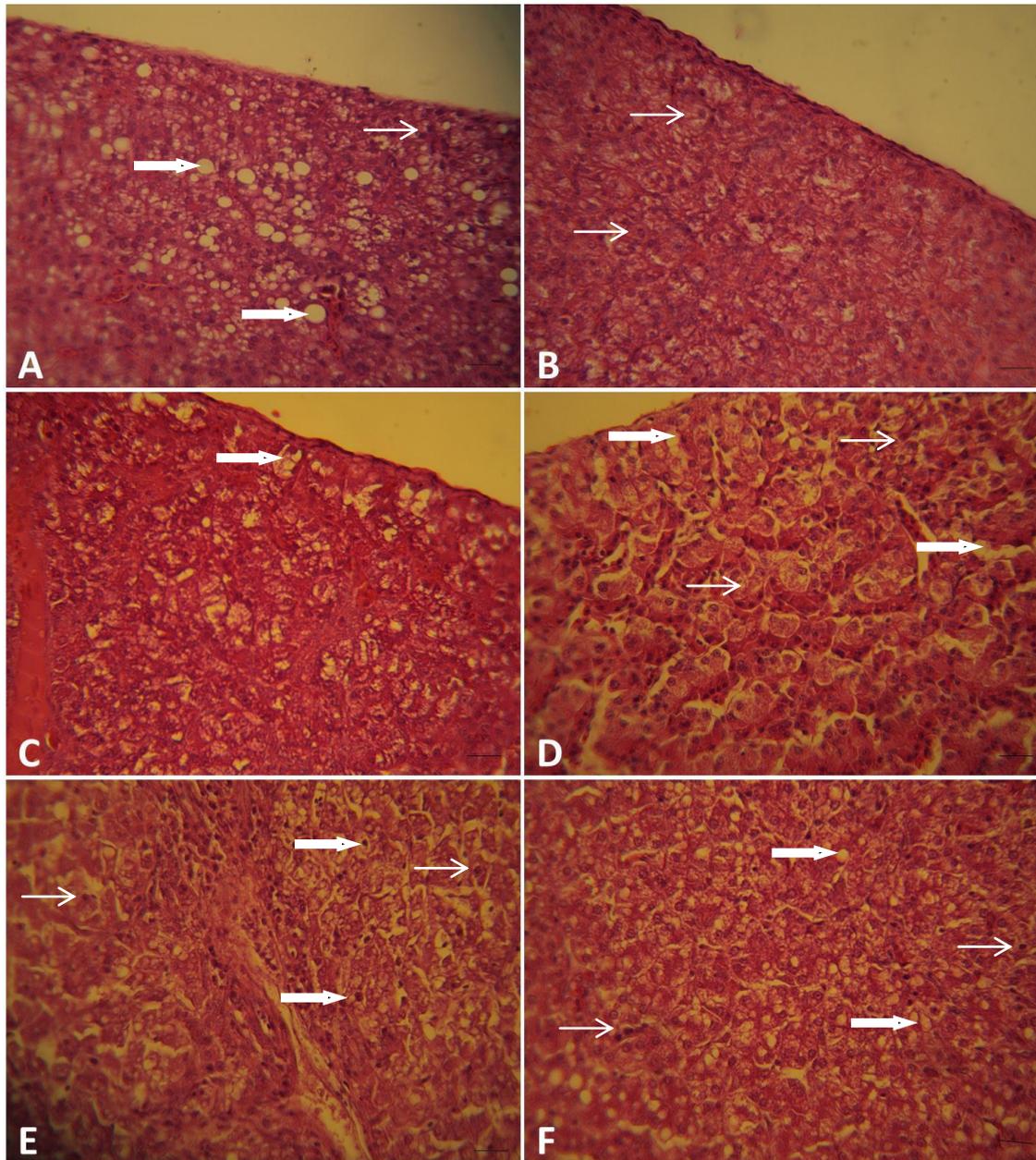


Figura 3: Fotomicrografias dos fígados de aves, observar: A) Grupo controle aos 21 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica (seta cheia) e condensação dos núcleos (seta fina). B) Grupo tratado com BS aos 21 dias, com leve vacuolização com característica cística (seta fina). C) Grupo controle aos 28 dias, com intensa vacuolização com característica lipídica (seta cheia). D) Grupo tratado com BS aos 28 dias, com intensa vacuolização (seta cheia) e desarranjo dos cordões sinusoidais (seta fina). E) Grupo controle aos 35 dias, com intensa vacuolização com característica cística (seta cheia) e condensação dos núcleos (seta fina). F) Grupo tratado com BS aos 35 dias, com leve vacuolização com característica lipídica (seta cheia) e condensação dos núcleos (seta fina). Aumento de 400x.

Conclusão

Baseado em nossos resultados podemos concluir que o Butirato de sódio não influenciou nos níveis das enzimas de função hepática estudadas, contudo o elevado valor da atividade enzimática pode ser a indicação das lesões do fígado em nível macroscópico. Pode-se afirmar também que a dosagem de AST e ALT não é um teste eficiente para detecção de lesão hepática

Referências

AHMED, A.A.S.; EL-ABDIN, Y.Z.; HAMZA, S. et al. Effect of experimental duck virus hepatitis infection on some biochemical constituents and enzymes in the serum of white Pekin ducklings. *Avian Dis.*, v.19, p.305-310, 1975.

BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P. et al. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.4, p.675-677, 2006.

BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P. et al. Efeitos da interação entre aflatoxicoses e doenças infecciosas bursais sobre níveis de enzimas de função hepática, colesterol e triglicéridos em frangos de corte. *Veterinária em Foco*, v. 8, n. 2, jan/jun 2011. P. 132-142.

BOVERA, F.; MANIELLO, G.; DE REU MEO, C. et al. Effect of diet on the metabolic profile of ostrich (*Struthio camelus* var. domesticus). *Tropical Animal Health Production*. V. 39, p. 265-270, 2007.

BUSH, B.M. Interpretation of laboratory results for small animal clinicians. Oxford: *Blackwell Scientific*, 1991. 200p.

CHANDRA, M.; SINGH, B.; SONI, G.L. et al. Renal and biochemical changes produced in broilers by high protein, high calcium, urea containing, and vitamin A deficient diets. *Avian Dis.*, v.23, p.1-11, 1983.

COLES, E.H. Liver function. *Veterinary clinical Pathology*. 2 edição, Philadelphia: SAUNDERS, 1974, 165p.

DIAZ, G.J.; SQUIRES, E.J.; JULIAN, R.J. The use of selected plasma enzyme activities for the diagnosis of fatty liver-hemorrhagic syndrome in laying hens. *Avian Diseases*, Grulph, v. 43, p. 768-773, 1999.

FERNANDEZ, A.; VERDE, M. T.; GASCON, M. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin containing feed. *Avian Pathology*, London, v. 23, n. 1, p. 37-47, 1994.

HACHLEITHNER, M. Biochemistry. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. *Avian Medicine: principles and application*, Florida: WINGERS, 1994, p. 229.

KRAMER, J.W. Clinical enzymology. In: KANEKO, J.J. (Ed) *Clinical biochemistry of domestic animals*. San Diego: ACADEMIC PRESS; 1989. p. 338-63.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzymology In: KANEKO, J. J., HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 303-323.

LANA, G.R.Q. *Avicultura*. Campinas: ED. RURAL, 2000. 268p.

LEVEILLE, G.A.; ROMSOS, D.R.; YEH, Y. et al. Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of site of synthesis, influence of diet possible regulatory mechanisms. *Poultry Sc.*, v. 54, p. 1075-1093, 1975.

LUMEIJ, J.T. Avian clinical biochemistry. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego: ACADEMIA PRESS, 1997, p. 857-879.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. *Bioquímica Básica*. Rio de Janeiro: GUANABARA, 1999. 360p.

MCDUGALD, L.R.; HANSEN, M.F. Histomonas meleagridis: effect on plasma enzymes in chickens and turkeys. *Exp. Parasitol.* v. 27, p. 229-235, 1970.

MINAFRA, C.S.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P. et al. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.11, p.1973-1977, 2008.

MORAES, L.B. *Estabelecimento de escores histopatológicos de lesão hepática e determinação dos valores normais das enzimas aspartato aminotransferase e creatina quinase em frangos de corte*. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

O'HEO, E.K; LEVIELLE, G.A. Lipid biosynthesis and transport in the domestic chick (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 30:149,01969.

RIEGEL, R.E. Bioquímica. São Leopoldo: ED. UNISINOS, 1996. 402p

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. Tabela Brasileira para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa-MG: UFV-Departamento de Zootecnia, 90 p, 2005.

SAUKAS, T.N. et al. Níveis séricos de cálcio, fósforo e colesterol em frangos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. 1994, Recife. *Anais...* Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1994. p.88.

SCHOLTZ, N.; HALLE, I.; FLACHOWSKY, G. et al. Serum chemistry reference values in adult japonese quail (*Coturnix coturnix japonica*) including sex-related differences. *Journal of Poltry Science*. V. 88, p. 1186-1190, 2009.

SHEID, B.; HIRSCHBERG, E. Glutamic dehydrogenase and aspartic and alanine aminotransferase activities in chick embryo liver. *Am. J. Physiol.*, v.213, n.5 p.1173-1176, 1967.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos. 11. ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 1996. 856 p.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. London: ACADEMIC PRESS, 1997. p.327-352.

TUNG, H.T.; DONALDSON, W.E.; HAMILTON, P.B. Altered lipid transport during aflatoxicosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v.22, p.97-104, 1972.

WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.Y.; TURNWALD, G. (Eds.) Diagnóstico clínico-patológico práctico em los animales pequeños. Buenos Aires: INTERMÉDICA, 1993. p.213-2