

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE DRACENA**

**ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM
ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA
FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *EIMERIA* SPP.**

Gabriela Ventura

Zootecnista

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE DRACENA**

**ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM
ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA
FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *EIMERIA* SPP.**

Gabriela Ventura

Orientadora: Profa. Associada Valquíria Cação Cruz-Polycarpo

Co-orientador: Gustavo do Valle Polycarpo

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Câmpus de Dracena, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

V468a

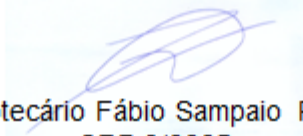
Ventura, Gabriela

Ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos em dietas para frangos de corte desafiados com *Eimeria* spp. / Gabriela Ventura. -- Dracena: [s.n.], 2019.
70 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2019.

Orientadora: Valquíria Cação Cruz-Polycarpo
Co-orientador: Gustavo do Valle Polycarpo
Inclui bibliografia.

1. Ácidos orgânicos. 2. Aves. 3. Desempenho. 4. Isótopos estáveis. 5. Microencapsulação. 6. Turnover intestinal I. Título.



Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas
CRB 8/6665



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *Eimeria* spp

AUTORA: GABRIELA VENTURA

ORIENTADORA: VALQUÍRIA CAÇÃO CRUZ-POLYCARPO

COORIENTADOR: GUSTAVO DO VALLE POLYCARPO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dra VALQUÍRIA CAÇÃO CRUZ-POLYCARPO
Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena


Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI
Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Câmpus de Dracena


Prof. Dr. VLADIMIR ELIODORO COSTA
Depto. de Física e Biofísica / IBB - Centro de Isótopos Estáveis - UNESP - Câmpus de Botucatu

Dracena, 05 de julho de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GABRIELA VENTURA – Nascida em Americana – SP em 18/09/1992. Ingressou em 2010 na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Unesp, Câmpus de Dracena, concluindo a graduação em Zootecnia em 2015. No ano de 2017 ingressou no programa de Pós-Graduação, mestrado *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia Animal – UNESP, Câmpus de Dracena, sendo que em Julho do ano de 2019 submeteu sua dissertação à banca examinadora.

EPÍGRAFE

“A felicidade só é real quando é compartilhada”.

Christopher Johnson McCandless

DEDICATÓRIA

À Deus.
Aos meus amados pais e querida irmã, pelo apoio, carinho e compreensão durante este período.
Aos familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me guiar sempre, principalmente nos momentos de dificuldades.

Agradeço imensamente a minha querida família, meus pais Sandra e Marcelo e à minha irmã, Isabela. Obrigada por sempre me apoiarem, incentivarem e sempre terem um conselho, uma palavra de sabedoria e um carinho a oferecer. Agradeço aos valores que me ensinaram ao longo da vida, a sempre ter perseverança e fazer tudo dando o melhor de mim, com a alma e trabalho duro. Assim, consegui chegar até aqui, e a partir daqui serão novos desafios, nos quais sempre levarei os seus ensinamentos para alcançar meus objetivos.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Valquíria Cação Cruz-Polycarpo, pelo apoio, dedicação, ensinamentos, conselhos e confiança que teve em mim. Agradeço por sempre me fazer buscar o melhor de mim. Por sempre estar me incentivando e me ensinando. Começamos nossa jornada quando eu ainda estava na graduação, e hoje, depois deste tempo trabalhando juntas, vejo em mim o quanto evolui como profissional e como pessoa, e você tem grande contribuição nesta minha conquista. Deixo aqui o meu muito obrigada a minha querida orientadora e amiga.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gustavo do Valle Polycarpo, por toda assistência, apoio e conselhos. Sempre disposto a ajudar, aconselhar e ensinar. Também sempre me incentivando a buscar o melhor.

Aos meus amigos e companheiros de equipe e do Setor de Avicultura que trabalharam juntamente comigo para a realização deste experimento, Gabrieli Lima, Bárbara Barbosa, Bárbara Polidoro, Henrique Centenaro, Ana Carla Sálvia, Jonas Camporezi, Mariana Basso, Bianca Cunha e Jéssica Ganzaroli. Deixo aqui meu eterno agradecimento.

Agradeço em especial às minhas amigas Bárbara e Gabrieli, que estiveram comigo cada momento da minha jornada do mestrado e durante a realização do experimento. Cada momento com vocês é especial, e o humor (principalmente da Gabrieli) deixa tudo mais leve e transformavam os dias de exaustão, após inúmeras coletas, em verdadeiras risadas e distração. Obrigada por sempre me ajudarem, aconselharem e serem pessoas com quem eu pude contar em todas as situações.

À minha amada família de Dracena, República Karkará. Irmãs que esta cidade me deu e que levarei para sempre. Agradeço às antigas moradoras: Amanda Mantovani, Carol Duarte, Tatiane Souza, Amanda Lallo e Júlia Horta por todo o amor, apoio e por acreditar em mim. Agradeço às novas moradoras: Thayná Pereira, Jéssica Bortoloto, Gabrieli Lima,

Bárbara Barbosa, Ana Clara Tomasetti, Nathália Barbosa, Isabela Tolentino, Bianca Domingues, Beatriz Ré e Marcela Faveri, pelo companheirismo, apoio, compreensão e amizade que me deram durante esta fase da minha vida.

Agradeço às instituições que contribuíram para a realização deste experimento, sendo elas: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado (Processo 2017/11745-8) e confiança depositada. À empresa Nutriad, que doou os ácidos butíricos utilizados no experimento, e ao representante David Jacob que sempre esteve à disposição. À Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – UNESP/Dracena, pela infraestrutura e aos auxiliares de campo, técnicos de laboratórios e professores que de alguma forma ajudaram durante a realização do experimento e/ou com as análises. Ao Laboratório de Ciências Biomédicas da USP – São Paulo, pela doação dos inóculos de eiméria utilizados no desafio sanitário. Ao Instituto de Biociências de Botucatu - Centro de Isótopos Estáveis Prof. Dr. Carlos Ducatti (CIE) - UNESP/Botucatu, agradecendo em especial ao supervisor do CIE, Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, à Dra. Juliana Célia Denadai e à toda a equipe do CIE que me auxiliaram durante as análises de *turnover* isotópico.

Agradeço ao Prof. Dr. Ramon Diniz Malheiros pela orientação durante a realização de meu Estágio Pesquisa no Exterior (BEPE), com bolsa concedida pela FAPESP (Processo 2018/22986-9). Agradeço os ensinamentos e os laços de amizades criados dentro do *Prestige Department of Poultry Science*, no qual sempre me senti bem-vinda. Agradeço a oportunidade que me foi dada, e a todos os envolvidos durante esta minha passagem na *North Carolina State University*, principalmente aos amigos Dimitri Malheiros, Benjamin Alig e Paige Antonelli.

Aos amigos que estiveram ao meu lado e os que mesmo longe me fizeram companhia nesta jornada, eu agradeço de coração. Aos funcionários, professores e familiares que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto, meu mais sincero muito obrigada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena




Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "**Ácido butírico livre e protegido em alternativa aos antibióticos em dietas para frangos de corte desafiados com Eimeria spp**" (Free and protected butyric acid as an alternative to antibiotics in diets for broilers challenged with *Eimeria spp*) registrada com o nº **18/2017 - CEUA**, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Valquíria Cação Cruz-Polycarpo** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em reunião de **22/06/2017**.

Dracena, 22 de junho de 2017.


Profa. Dra. Sirlei Aparecida Maestá
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *EIMERIA* SPP.

RESUMO – Os ácidos orgânicos protegidos têm mecanismo de ação diferenciado dos ácidos orgânicos não protegidos, permitindo que sua atuação aconteça em uma área específica do intestino, possibilitando maior eficácia em sua ação como antimicrobiano, o que influenciará as condições do trato gastrointestinal, e conseqüentemente o desempenho. Para tanto, foram utilizados 1.320 pintos de corte machos, *Cobb*, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições. Os tratamentos consistiram em: T1 - Ração Basal (RB); T2 - RB + ácido butírico livre (L); T3 - RB + ácido butírico microencapsulado (M); T4 - RB + ácido butírico L+M; T5 - RB + antibiótico e anticoccidiano. Aos 16 dias de idade, todas as aves foram desafiadas por meio da inoculação de um *pool* de *Eimerias*. Foi observado efeito dos ácidos fornecidos de forma isolada no GP e CR das aves nas fases de 1 a 14 e 1 a 21 dias, quando comparado com o os ácidos na forma associada. Aos 42 dias, aves que foram suplementadas com o ácido butírico, independente da forma, apresentaram queda no desempenho. Após o desafio, os aditivos proporcionaram recuperação da mucosa, mostrando melhorias na altura das vilosidades em relação ao grupo controle negativo, além do aumento de células caliciformes por vilo no jejuno das aves suplementadas com o ácido na forma livre. O número de oocistos excretados por grama de fezes mostrou interação entre aditivo e período de coleta. Na leitura de escore de lesão foi observado que o grupo dos aditivos não mostrou diferenças em relação ao grupo controle negativo. Ao avaliar o *turnover* da mucosa, ficou evidente que a suplementação com ácido butírico, assim como de antibiótico e anticoccidiano, não acelerou o *turnover* da mucosa intestinal durante o crescimento e maturação do intestino, porém durante a regeneração desse tecido a associação dos ácidos butíricos tornou a proliferação celular mais rápida. Conclui-se que a suplementação com ácido butírico fornecido isoladamente melhora o desempenho de frangos de corte até 21 dias de idade e são importantes para a manutenção e função da mucosa intestinal, além de acelerar a proliferação celular.

Palavras-chave: Ácidos orgânicos, aves, desempenho, isótopos estáveis, microencapsulação, *turnover* intestinal

UNCOATED AND MICROENCAPSULATED BUTYRIC ACID IN ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS IN DIETS FOR BROILERS CHALLENGED WITH EIMERIA SPP.

ABSTRACT – Protected organic acids have a different mechanism of action from non-protected organic acids, allowing its operations happen in a specific area of the intestine, allowing greater effectiveness in its action as an antimicrobial, which may influence gastrointestinal tract conditions, and consequently performance. For this, 1,320 male Cobb chicks were distributed in a completely randomized design with five treatments and six replicates. The treatments were: T1 - basal diet; T2 - basal diet + uncoated butyric acid; T3 - basal diet + microencapsulated butyric acid; T4 - basal diet + uncoated butyric acid + microencapsulated butyric acid; T5 - basal diet + antibiotic and anticoccidial. At 16 days of age, the birds of all treatments were challenged by inoculating a pool of *Eimeria*. At 42 days, birds that were supplemented with butyric acid, regardless of the form, showed a decrease in performance. After the challenge, the additives provided mucosal recovery, showing improvements in villus height in relation to the negative control group, and increased goblet cells per villus jejunum of birds supplemented with acid in the uncoated form. The number of oocysts excreted per gram of feces showed an interaction between the additive and collection period. In the reading of lesion score, it was observed that the group of the additives showed no differences in relation to the negative control group. When evaluating mucosa turnover, it was evident that the supplementation with butyric acid, as well as antibiotics, does not accelerate the turnover of the intestinal mucosa during the growth and maturation of the intestine, but during the regeneration of this tissue, the association of the butyric acids accelerates the proliferation cellular. It is concluded that the supplementation with butyric acid provided alone improves the performance of broiler chickens up to 21 days of age and are important for the maintenance and function of the intestinal mucosa, in addition to accelerating cell proliferation.

Key words: Intestinal turnover, microencapsulation, organic acids, performance, poultry, stable isotopes

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição centesimal e valores calculados das dietas experimentais.	38
Tabela 2. Esquema dos contrastes ortogonais que foram aplicados para avaliar o efeito dos tratamentos.....	47
Tabela 3. Desempenho de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.....	49
Tabela 4. Desempenho de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.....	50
Tabela 5. Desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.....	51
Tabela 6. Morfometria (μm) do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.....	52
Tabela 7. Morfometria (μm) do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.....	54
Tabela 8. Número de células caliciformes por vilo do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.	55
Tabela 9. Número de células caliciformes por vilo do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.	56
Tabela 10. Contagem de oocistos por grama de fezes aos 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação e escores de lesão no intestino dos frangos de corte, aos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 e 19 dias após a inoculação com <i>Eimeria</i> spp.....	57
Tabela 11. Desdobramento da interação dos aditivos com o período sobre o número de oocistos de <i>Eimerias</i> spp. por grama de fezes (OOPG) aos 4, 5, 6, e 7 dias após a inoculação das aves.	58

Lista de Figuras

Figura 1. Temperatura instantânea, máxima, mínima e globo negro.....	34
Figura 2. Umidade relativa do ar.....	35
Figura 3. Vista interna do galpão de frangos de corte.....	36
Figura 4. Grânulos de ácido butírico microencapsulado em óleo de palma (A) e grânulos de ácido butírico livre (B).	39
Figura 5. Inoculação via oral dos oocistos de <i>Eimeria</i> spp.....	40
Figura 6. Coleta de mucosa intestinal da alça duodenal por meio de raspagem.....	41
Figura 7. Demonstração das medidas realizadas no duodeno aos 14 dias.....	43
Figura 8. Desidratação com álcool e coloração dos cortes histológicos.....	44
Figura 9. Segmento do duodeno com células caliciformes coradas com Alcian Blue.....	45
Figura 10. Taxa de turnover da mucosa intestinal na fase de 1 a 21 dias de idade.	59
Figura 11. Taxa de turnover da mucosa intestinal na fase de 22 a 42 dias de idade.	60

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Coccidiose aviária.....	17
2.2 Uso de antibióticos.....	18
2.3 Ácidos orgânicos.....	18
2.4 Ácido butírico.....	20
2.5 Ácidos orgânicos protegidos.....	21
2.6 Isótopos estáveis e <i>turnover</i> isotópico.....	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	24
CAPÍTULO II - ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM <i>EIMERIA SPP.</i>	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Aves e Tratamentos.....	35
2.2 Rações Experimentais.....	36
2.3 Desafio Sanitário.....	39
2.4 Análise isotópica.....	40
3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS	42
3.1 Desempenho.....	42
3.2 Morfometria intestinal.....	42
3.3 Contagem de células caliciformes intestinais.....	44
3.4 Contagem de oocistos e escores de lesão do epitélio intestinal.....	45
3.5 <i>Turnover</i> da mucosa intestinal.....	46
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5 RESULTADOS	48
5.1 Desempenho.....	48
5.2 Morfometria Intestinal.....	51
5.3 Contagem de células caliciformes intestinais.....	55
5.4 Contagem de oocistos e Escores de lesão do epitélio intestinal.....	56
5.5 <i>Turnover</i> da mucosa intestinal.....	59
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	67
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	67

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A preocupação dos consumidores em relação ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho na alimentação animal tem sido constante nos últimos tempos, bem como com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos saudáveis com ausência de resíduos químicos. Diante dessa situação, e na busca em manter o desempenho na produção avícola, nutricionistas trabalham em uma série de produtos e/ou nutrientes alternativos que auxiliam, por meio de mecanismos específicos, a superar desafios que favorecem a manifestação de problemas entéricos nos animais (PELÍCIA *et al.*, 2011).

Uma das alternativas à utilização dos antibióticos como promotores de crescimento é a utilização de ácidos orgânicos. Pesquisas relatam efeitos positivos ao suplementar dietas de aves com ácidos orgânicos (ABDEL-FATTAH *et al.*, 2008; EMAMI; NAEINI; RUIZ-FERIA, 2013; ABUDABOS *et al.*, 2014; SALEEM *et al.*, 2018; SABOUR; TABELDIAN; SADEGHI, 2019) melhorando o desempenho zootécnico. Porém, há também estudos que não relatam melhoras com relação a aplicação destes na dieta avícola (MAIORKA *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2009; BARBIERI *et al.*, 2015; ABBASI *et al.*, 2018).

De todos os efeitos gerados pelo uso de ácidos orgânicos, o principal deles é a redução do pH. O efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos está relacionada com essa redução (CHERRINGTON *et al.*, 1991). Este efeito, auxilia a criação de um ambiente intestinal favorável ao crescimento dos microrganismos benéficos (EWING; COLE, 1994).

A integridade das células epiteliais da mucosa gastrintestinal é de vital relevância para o bom desempenho das aves (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2008). Distúrbios na microbiota normal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, patógenos ou substâncias químicas, podem alterar a permeabilidade desta barreira natural, e facilitar a invasão de patógenos e outras substâncias nocivas, causando inflamações crônicas na mucosa intestinal e reduzir a capacidade de digestão e absorção de nutrientes, (PODOLSKY, 1993), possibilitando o comprometimento da produtividade.

Diante dos muitos fatores que interferem na atuação destes ácidos, foi necessário buscar alternativas para seu uso, e para tanto, recentemente iniciou-se estudos com ácidos orgânicos na forma microencapsulada (protegida), (GRILLI *et al.*, 2011; GRILLI *et al.*, 2012; GHEISAR; HOSSEINDOUST; KIM, 2015); afim de obter-se melhores resultados no desempenho das aves, assim como também na redução de patógenos no intestino.

A eficácia dos ácidos orgânicos na modulação da microbiota intestinal pode ser limitada devido à sua rápida absorção ao entrar no duodeno (PIVA *et al.*, 2007). A microencapsulação pode ser uma possível alternativa para retardar a rápida degradação

dos ácidos na porção anterior do trato digestório (PIVA *et al.*, 1997), e assim ter maior efeito antimicrobiano, o que poderá melhorar aspectos morfofisiológicos intestinais e de desempenho zootécnico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Coccidiose aviária

A coccidiose em aves é considerada a doença mais importante e com maior impacto na avicultura industrial. O seu causador são os protozoários do gênero *Eimeria*, que causam enterite e diarreia nas aves, com consequente diminuição na absorção intestinal de nutrientes, gerando grandes perdas na produtividade (ALLEN; FETTERER, 2002). Apesar da sua importância, poucos trabalhos são avaliados frente a um desafio microbiano. Polycarpo *et al.* (2017) em um estudo meta-analítico constataram que apenas 12% dos artigos publicados entre 1991 e início de 2016 basearam-se em experimentos que ofereciam algum tipo de desafio microbiológico aos frangos.

As *Eimerias* quando infectam as aves e desenvolvem-se nas células intestinais, causam modificações drásticas nas estruturas e aparência das vilosidades, destroem as células parasitadas, levam à diminuição da altura das vilosidades e área de superfície dos vilos, resultando em diminuição da capacidade de absorção. Muitas vezes, ocorre a destruição das células epiteliais do intestino, impedindo a renovação das vilosidades levando a perda de fluidos, hemorragia e susceptibilidade a outras doenças (KAWAZOE, 2000). À medida que é destruído um grande número de células nas vilosidades intestinais, ocorre tentativas de reparo e reconstituição da mucosa através do processo de proliferação celular na região das criptas (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2008). A gravidade da coccidiose depende do número de oocistos ingeridos, grau de virulência das cepas e da susceptibilidade do hospedeiro (LUQUETTI *et al.*, 2006).

As espécies mais frequentes de *Eimeria* encontradas em frangos são *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* (COSTA, 2002) e a diferença entre estas espécies é o grau de patogenicidade e a localização da infecção. A *E. acervulina* ocupa o duodeno até a região mediana do intestino delgado. A *E. maxima* acomete principalmente a região do jejuno, mas também podem ocasionar lesões no duodeno e íleo. A *E. tenella* desenvolve-se nas células do ceco (KAWAZOE, 2000). A coccidiose causada pela *E. acervulina* e *E. maxima*, são consideradas as menos severas, porém são as que causam maiores prejuízos ao processo

de digestão e absorção, pois atingem grande área da região do duodeno e jejuno, onde ocorre a maior parte da digestão e absorção de nutrientes (COLNAGO, 1999).

2.2 Uso de antibióticos

A utilização de aditivos antimicrobianos na produção animal é frequente, e a partir da década de 50 o uso desse tipo de aditivo teve um aumento expressivo (BONDI *et al.*, 2009). Antibióticos são compostos químicos produzidos por microrganismos que inibem o crescimento de outros microrganismos. São usados para combater infecções em doses preventivas e curativas, e também são estimulantes do crescimento e produção (ENGLERT, 1998), sendo que quando utilizados na nutrição animal, as doses empregadas são subterapêuticas (COMPANYÓ *et al.*, 2009).

Os níveis subterapêuticos utilizados nas rações de animais proporcionam aumento no ganho de peso, melhora da conversão alimentar e redução da mortalidade (IAFIGLIOLA *et al.*, 2000). Quanto aos seus aspectos microbiológicos, o uso de aditivos antimicrobianos tem permitido a manutenção de uma microbiota desejável, ao diminuir o crescimento de cepas de microrganismos considerados indesejáveis, proporcionando um meio favorável para a proliferação de cepas desejáveis (ALBUQUERQUE, 2005).

O uso indiscriminado dos antibióticos na alimentação animal por muitos anos pode ter resultado no desenvolvimento de populações bacterianas resistentes (LODDI *et al.*, 2000; FLEMMING; FREITAS, 2005). Além disso, nos últimos anos o mercado consumidor tem apresentado restrição ao consumo de carne de aves alimentadas com rações contendo antibióticos, principalmente os países europeus (CORREA *et al.*, 2003).

Em vista disso, faz-se necessária a busca por aditivos alternativos que possam substituir os antibióticos na alimentação animal, e que se adequem às exigências dos consumidores e mercado externo, mas que não causem perdas na produção mantendo a qualidade do produto final.

2.3 Ácidos orgânicos

Ácidos orgânicos são considerados substâncias que possuem pelo menos uma carboxila em sua estrutura, sendo incluídos os aminoácidos e os ácidos graxos. Quando utilizados na nutrição animal trata-se de ácidos fracos de cadeia curta, como por exemplo os ácidos acético, propiônico, butírico, fumárico, fórmico, benzóico, cítrico, entre outros que possam estar associados com a atividade antimicrobiana (PENZ; SILVA; RODRIGUES, 1993).

O principal mecanismo de ação dos ácidos orgânicos é a ação antimicrobiana, devido à redução do pH no interior da célula microbiana (ROTH; KIRCHGESSNER, 1998), agindo desta forma, como inibidores do crescimento de bactérias patogênicas. As principais utilizações dos ácidos são como aditivos melhoradores de desempenho em dietas animais, na estimulação de reações metabólicas por serem fontes de energia, aumentam a digestibilidade, melhoram a morfologia intestinal (PARTANEN; MROZ, 1999), e também, atuam na sanitização de alimentos e conservação de grãos.

As principais limitações do uso de ácidos orgânicos são devido ao fato destes serem imediatamente absorvidos e metabolizados ao entrarem no duodeno. Desta forma, a ação do ácido ao longo das partes restantes do intestino fica comprometida, por conta dos baixos níveis de ácidos no local ou da inexistência dos mesmos (PIVA *et al.*, 2007).

A utilização de ácidos orgânicos como aditivos em rações para frangos de corte é discutida há anos por nutricionistas e profissionais da área. Os diversos trabalhos na área têm mostrado resultados variados quanto ao desempenho zootécnico, em comparação aos antibióticos promotores de crescimento.

A adição de ácidos orgânicos na dieta de frangos requer ajustes, pois as aves possuem particularidades no seu trato digestório. A presença do ácido clorídrico no proventrículo e o pH ácido no interior do papo e da moela permitem a acidificação natural do alimento ingerido desde o primeiro dia de idade. Outro cuidado a ser levado em consideração é o menor comprimento e tempo de passagem do alimento no trato digestório, além da grande capacidade secretória de pepsinogênio e ácido clorídrico (KIEN; CHANG; COOPER, 2000).

O estudo de Thompson e Hinton (1997) mostrou que ácidos orgânicos têm maior efeito antibacteriano na parte anterior do trato digestório, papo e moela, onde houve maior recuperação dos ácidos fórmico e propiônico. Bolton e Dewar (1964) mostraram que os ácidos acético, propiônico e butírico usados no nível de 2,5% na forma de sais de cálcio, são completamente absorvidos antes do divertículo de Meckel. Hume *et al.* (1993) observaram que apenas uma pequena porção de ácido propiônico da dieta alcança os cecos e porção final do trato digestório.

Objetivando aumentar a eficácia destes aditivos, deve ser feito um controle minucioso do seu comportamento dentro do trato digestório, para assegurar sua disponibilidade em quantidades suficientes no local de ação apropriado e limitar sua absorção (MEUNIER *et al.*, 2006). A técnica de microencapsulação pode ser a possível solução para esta questão.

2.4 Ácido butírico

O ácido butírico ou ácido butanoico é um ácido carboxílico que possui em sua estrutura quatro átomos de carbono. Além de sua atividade antimicrobiana, este ácido é fonte de energia prontamente disponível para as células epiteliais do intestino e estimula sua multiplicação e diferenciação (DALMASSO *et al.*, 2008), conseqüentemente melhorando a eficiência alimentar (ADIL *et al.*, 2010).

Embora seja uma molécula simples, o ácido butírico pode ter diferentes modos de ação e devido ao seu cheiro pungente é muito usado em sua forma de butirato de cálcio ou sódio (KACZMAREK *et al.*, 2016).

O ácido butírico pode ter vários papéis importantes no intestino, tais como, fornecimento de energia às células epiteliais gastrintestinais, que aumenta a proliferação de células da mucosa, e melhora o desenvolvimento celular; a inibição do crescimento de patógenos, modulando a função imunológica; e o controle da permeabilidade intestinal, melhorando a função de barreira intestinal (PENG *et al.*, 2007; PENG *et al.*, 2009; GUILLOTEAU *et al.*, 2010; LEONEL; ALVAREZ-LEITE, 2012; WANG *et al.*, 2012).

Alguns estudos com aves demonstraram que a suplementação alimentar com o ácido butírico aumentou o ganho de peso, melhorou a estrutura morfológica do intestino, reduziu a colonização e o desprendimento de *Salmonella* e diminuiu a ocorrência de lesões necróticas no intestino delgado induzidas por *C. perfringens* (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2005; FERNANDEZ-RUBIO *et al.*, 2009; TIMBERMONT *et al.*, 2010).

O butirato de sódio, que atua como substituto para o ácido butírico por ser sólido, estável e não-odorífero (ZHANG *et al.*, 2011a, b), também pode proteger a estrutura e a função da barreira intestinal (MA *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012; HAN *et al.*, 2015), a morfologia intestinal, reduzir a colonização e invasão de patógenos intestinais (LEESON *et al.*, 2005; VAN IMMERSEEL *et al.*, 2006; GROSCHWITZ; HOGAN, 2009; TIMBERMONT *et al.*, 2010; CERISUELO *et al.*, 2014); e reduzir as respostas inflamatórias intestinais (JERZSELE *et al.*, 2012).

Encontra-se no mercado dois tipos de preparação do ácido butírico, o encapsulado e o não encapsulado. Nos produtos encapsulados são utilizados transportadores minerais ou lipídicos, e estes são adicionados à dieta. Os produtos não encapsulados são pós ou líquidos que podem ser adicionados tanto na dieta como na água de bebida (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2005).

Estudos mostraram que o ácido butírico fornecido via oral pode ter efeito benéfico no desempenho animal independente da sua forma de preparação (TAHERPOUR *et al.*, 2009;

PANDA *et al.*, 2009; JERZSELE *et al.*, 2012; CHAMBA *et al.*, 2014; EDMONDS; JOHAL; MORELAND, 2014).

Estudos utilizando o butirato de sódio microencapsulado nas dietas de frangos de corte são escassos, sendo necessárias mais pesquisas para elucidar os seus efeitos. Ao estudar este aditivo, Song *et al.* (2017) notaram melhorias na integridade da barreira intestinal que havia sido danificada pelas lesões necróticas decorrentes da inoculação de *C. perfringens*, sugerindo que o butirato de sódio microencapsulado é capaz de amenizar as lesões causadas na mucosa intestinal.

Deepa *et al.* (2018) em revisão sobre o ácido butírico, constataram que diversos autores (AGHAZADEH; YAZDI 2012; CZERWINSKI *et al.* 2012; JERZSELE *et al.* 2012; CERISUELO *et al.* 2014; CHAMBA *et al.* 2014; KAMAL; RAGAA 2014; LAKSHMI; SUNDER 2015; DEGHANI-TAFTI; JAHANIAN, 2016; EL-GHANY *et al.* 2016) ao estudarem diferentes formas e níveis do ácido encontraram resultados bastante divergentes em relação ao ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

2.5 Ácidos orgânicos protegidos

Microencapsulamento é uma técnica na qual pequenas partículas ou gotículas são cercadas por uma película como, por exemplo, carboidratos, celuloses, lipídios ou proteínas, formando pequenas cápsulas esféricas com parede uniforme ao seu redor (JYUTHI SRI *et al.*, 2012). Esta técnica permite liberação lenta e continuada ao longo de todo o trato digestório, aumentando assim a disponibilidade luminal destes compostos no íleo e cólon (MEUNIER *et al.*, 2006).

A técnica do microencapsulamento foi desenvolvida para melhorar a proteção, a biodisponibilidade e a liberação controlada do ácido no organismo do animal. A microencapsulação dos ácidos orgânicos permite que o ácido atinja o trato intestinal total e ceco sem ter sido dissociado nos órgãos anteriores (VAN IMMENSEEL *et al.*, 2004), realizando sua ação bactericida no terço final do intestino delgado e intestino grosso, melhorando a microbiota desejável e fermentadora de fibra e carboidratos não amiláceos da dieta, otimizando assim a produção de energia a partir destes produtos (GAUTHIER, 2002).

Piva *et al.* (2007) comprovando a teoria acima, verificaram que uma mistura de ácidos orgânicos protegidos através do processo de microencapsulação com gordura, apresentaram lenta liberação dos ingredientes ativos no intestino de suínos, prevenindo a rápida dissociação dos ácidos orgânicos.

Os trabalhos com ácidos orgânicos protegidos na área de avicultura de corte são escassos, porém trabalhos com suínos já são estudados há mais tempo e comprovam a

eficácia do aditivo. Trabalhos de Piva *et al.* (2007) e Grilli *et al.* (2010) indicam que a suplementação de dietas com mistura de ácidos orgânicos protegidos levou a melhoria no desempenho de leitões desmamados. Estudo de Gheisar, Hosseindoust e Kim (2015) demonstrou que a adição de ácidos orgânicos protegidos às dietas de frangos de corte melhorou o desempenho e resultou em contagens crescentes de *Lactobacillus* fecal, sendo benéfico para a saúde intestinal das aves.

2.6 Isótopos estáveis e *turnover* isotópico

O termo isótopo vem do grego *ISO* (mesmo ou igual) e *TOPOS* (lugar), referindo-se ao fato de que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica. O termo estáveis significa que não emitem radiação. Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico (mesmo número de prótons), mas que diferem em número de nêutrons, apresentando diferentes massas. Cada elemento químico pode apresentar um ou mais isótopos estáveis, com abundância diferente: carbono-12 (^{12}C), carbono-13 (^{13}C), nitrogênio-14 (^{14}N), e nitrogênio-15 (^{15}N), quantificados pela razão isotópica (DUCATTI, 2007).

A diferença natural na razão isotópica de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) existente entre plantas de ciclo fotossintético distinto (C_3 e C_4) tem possibilitado utilizá-las como marcadores nos tecidos animais. As plantas da via fotossintética C_3 são a maioria das árvores, arbustos, soja, arroz, trigo, cevada entre outros, e a via C_4 é encontrada no milho, sorgo, cana-de-açúcar e outras gramíneas tropicais (DUCATTI, 2007). Utilizar este recurso natural fez com que diminuísse a necessidade de utilizar compostos marcados, que são produtos de alto custo. Substituindo também os radioativos, evitando problemas de saúde humana e de segurança ambiental (METGES; KEMPE; SCHMIDT, 1990).

Os valores isotópicos de ^{13}C são expressos na terminologia dos isótopos estáveis, diferença relativa da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação a razão isotópica de um padrão internacional, *PeeDee Belemnite* (PDB), visto que o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono (DUCATTI, 2007). Este trata-se do carbonato sólido de Belemnite da era cretácea, *Belemnite americana*, da formação Peedee da Carolina do Sul, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). O resultado é usualmente um valor negativo, pois a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ das plantas, por exemplo, é inferior à do PDB. Como os valores de δ (delta) são muito pequenos, eles são expressos em partes por mil (‰) (O'Leary, 1981).

Esses marcadores naturais vêm sendo utilizados com eficácia nos estudos com frangos de corte (CRUZ *et al.*, 2005, 2012; GOTTMANN *et al.*, 2008; PELÍCIA *et al.*, 2011;

OLIVEIRA *et al.*, 2012; DUCATTI *et al.*, 2014, 2015; SARTORI *et al.*, 2015). Esta análise da variação natural da abundância de isótopos estáveis apresentam-se como uma ferramenta potencialmente poderosa para as pesquisas em fisiologia e nutrição, uma vez que a razão isotópica dos elementos do corpo dos consumidores geralmente assemelha-se à de suas dietas (DUCATTI, 2007), podendo ser utilizada para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais (GANNES; DEL RIO; KOCH, 1998).

Na área de nutrição animal, a análise dos isótopos estáveis vem crescendo nas últimas décadas. Segundo Pelícia *et al.* (2011), a técnica também tem sido utilizada para avaliar o efeito dos aditivos naturais alternativos aos antibióticos sobre a mucosa intestinal por meio da avaliação da taxa de *turnover*, ou seja, a velocidade estimada da regeneração ou desenvolvimento da mucosa.

O *turnover* isotópico é caracterizado pela renovação contínua dos elementos químicos e, conseqüentemente, dos isótopos que compõem o tecido corporal ou o organismo como um todo. Esse *turnover* pode ocorrer por meio de renovação tecidual resultante do processo de síntese e degradação em tecidos adultos e/ou pelo próprio crescimento nos tecidos em formação (DUCATTI, 2007).

Ducatti *et al.* (2002) fundamentados em resultados da literatura, propuseram um modelo teórico-experimental capaz de exprimir os resultados do enriquecimento relativo de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas contrastantes em $\delta^{13}\text{C}$ (formuladas com grãos de plantas dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4) à animais adultos. Partindo do pressuposto que o metabolismo de determinado tecido animal depende da taxa de entrada de compostos de carbono da dieta e da taxa de substituição dos compostos pré-existentes, os autores propuseram o uso da equação:

$$\delta^{13}\text{C}_{(t)} = \delta^{13}\text{C}_{(f)} + [\delta^{13}\text{C}_{(i)} - \delta^{13}\text{C}_{(f)}]e^{-kt}$$

Onde: $\delta^{13}\text{C}_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do carbono no tempo desejado; $\delta^{13}\text{C}_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do carbono final; $\delta^{13}\text{C}_{(i)}$ = enriquecimento isotópico inicial no tecido; k = constante de troca de carbono (*turnover*); t = unidade de tempo.

Assim, o uso de metodologias inovadoras, como o *turnover* celular, tem ajudado a elucidar o efeito dos aditivos melhoradores de desempenho, complementando a interpretação dos resultados obtidos com análises habitualmente realizadas, como é o caso das de desempenho e morfometria intestinal, no qual são utilizadas visando encontrar aditivos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento para atender o mercado atual.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, A.; HASHEMI, S. R.; HASSANI, S.; EBRAHIMI, M. Gastrointestinal Microbial Population Response and Performance of Broiler Chickens Fed with Organic Acids and Silver Nanoparticles Coated on Zeolite under Heat Stress Condition. **Iranian Journal Of Applied Animal Science**, v. 8, n. 4, p. 685-691, 2018.

ABDEL-FATTAH, S. A.; EL-SANHOURY, M. H.; EL-MEDNAY, N. M.; ABDEL-AZEEM, F. Thyroid activity some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 7, p. 215-222, 2008.

ABUDABOS, A. M.; AL-MUFARREJ, S. I.; ALYEMNI, A. H.; YEHIA, H. M.; GARELNABI, A. R.; ALOTYBI, M. N. Effect of using organic acids to substitute antimicrobial growth promoters on broiler chickens performance. **Journal of Food Agriculture and Environment**, v. 12, n. 2, p. 447-451, 2014.

ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 10, p. 4061–4067, 2010.

AGHAZADEH, A. M.; YAZDI, M. T. Effect of butyric acid supplementation and whole wheat inclusion on the performance and carcass traits of broilers. **South African Journal Of Animal Science**, v. 42, n. 3, p. 241-248, 2012.

ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como promotores do crescimento. *In*: PALERMO NETO, J., SPINOSA, H. S., GORNIK, S. L. **Farmacologia aplicada a avicultura**. Rio de Janeiro: Roca, 2005.

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. **Clinical Microbiology**, v. 15, p. 58-65, 2002.

BARBIERI, A.; POLYCARPO, G. V.; CARDOSO, R. G. A.; SILVA, K. M.; DADALT, J. C.; MADEIRA, A. M. B. N.; SOUZA, R. L. M.; ALBUQUERQUE, R.; CRUZ-POLYCARPO, V. C. Effect of probiotic and organic acids in an attempt to replace the antibiotics in diets of broiler chickens challenged with *Eimeria spp.* **International Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 14, p. 606-614, 2015.

BOLTON, W.; DEWAR, W. A. The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. **British Poultry Science**, v. 6, p.103-105, 1964.

BONDI, M. C.; Marazuela, M. D.; Herranz, S.; Rodriguez, E. An overview of sample preparation procedures for LC-MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples. **Anais Bioanal. Chem.**, v. 395, p. 921-946, 2009.

CERISUELO, A.; MARÍN, C.; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, F.; GÓMEZ, E. A.; DE LA FUENTE, J. M.; DURÁN, R.; FERNÁNDEZ, C. 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**, v. 93, n. 3, p. 599-606, 2014.

CHAMBA, F.; PUVALTO, M.; ORTIZ, A.; TORREALBA, H.; MALLO, J. J.; RIBOTY, R. Effect of partially protected sodium butyrate on performance digestive organs intestinal villi and *E. coli* development in broilers chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 13, n. 7, p. 390-396, 2014.

CHERRINGTON, C. A.; HINTON, M.; CHOPRA, I. Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications. **Advances Microbial Physiology**, v. 32, n. 32, p. 87-108, 1991.

COLNAGO, G. L. A. Coccidiose como doença nutricional. *In*: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE AVIÁRIA. Foz do Iguaçu. **Anais...Foz do Iguaçu: FACTA**, 1999. p.35-44.

COMPANYÓ, R.; GRANADOS, M.; GUITERAS, J. Antibiotics in food: legislation and validation of analytical methods. **Anais... Bioanal. Chem.**, v. 395, p. 877-891, 2009.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S. Utilização de antibiótico e probióticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural**, v. 22, n. 2, p. 35-81, 2003.

COSTA, C. A. F. Controle da coccidiose: possíveis avanços. *In*: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM. Santa Maria. **Anais...Santa Maria: UFSM**, 2002. p. 36-47.

CRAIG, H. Isotopic variations in meteoric water. **Science**, v. 133, p. 1702-1703, 1957.

CRUZ, V. C.; DUCATTI, C.; PEZZATO, A. C.; PINHEIRO, D. F.; SARTORI, J. R.; GONÇALVES, J. C.; CARRIJO, A. S. Influence of diet on assimilation and turnover of ^{13}C in the tissues of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 382-389, 2005.

CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; PINHEIRO, D. F.; SARTORI, J. R.; GONÇALVES, J. C. Poultry offal meal in chicken: Traceability using the technique of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) stable isotopes. **Poultry Science**, v. 91, n. 2, p. 478-486, 2012.

CZERWIŃSKI, J.; HOJBERG, O.; SMULIKOWSKA, S.; ENGBERG, R. M.; MIECZKOWSKA, A. Effects of sodium butyrate and salinomycin upon intestinal microbiota, mucosal morphology and performance of broiler chickens. **Archives Of Animal Nutrition**, v. 66, n. 2, p.102-116, 2012.

DALMASSO, G.; NGUYEN, H. T. T.; YAN, Y.; CHARRIER-HISAMUDDIN, L.; SITARAMAN, S. V.; MERLIN, D. Butyrate transcriptionally enhances peptide transporter PepT1 expression and activity. **Plos One**, v. 3, p. 2476-2489, 2008.

DEEPA, K.; PURUSHOTHAMAN, M. R.; VASANTHAKUMAR, P.; SIVAKUMAR, K. Butyric acid as an antibiotic substitute for broiler chicken a review. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 6, n. 2, p.63-69, 2018.

DEHGHANI-TAFTI, N.; JAHANIAN, R. Effect of supplemental organic acids on performance, carcass characteristics, and serum biochemical metabolites in broilers fed diets containing different crude protein levels. **Animal Feed Science And Technology**, v. 211, p. 109-116, 2016.

DUCATTI, C. Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, suplemento especial, p. 1-10, 2007.

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. D. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C.; OKINO MITUO, M. A.; DENADAI, J. C.; BUOSI MARTINS, M.; SOUZA-KRULISKI, C. R.; PELÍCIA, V. C.; SARTORI, J. R. *Turnover* de carbono nos tecidos de frangos de corte em diferentes fases de crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 8, p. 1472-1478, 2014.

DUCATTI, C.; SARTORI, M. M. P.; DENADAI, J. C.; COSTA, V. E.; PELÍCIA, V. C.; MACARI, M. Modelling and determination of metabolic pools by stable carbon isotopes in the avian duodenal mucosa and albumen. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 1, p. 77-84, 2015.

EDMONDS, M. S.; JOHAL, S.; MORELAND, S. Effect of supplemental humic and butyric acid on performance and mortality in broilers raised under various environmental conditions. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, p. 1-8, 2014.

EL-GHANY, W. A. A.; AWAAD, M. H.; NASEF, S. A.; GABER, A. H. Effect of Sodium Butyrate on Salmonella Enteritidis Infection in Broiler Chickens. **Asian Journal Of Poultry Science**, v. 10, n. 2, p.104-110, 2016.

EMAMI, N. K.; NAEINI, S. Z.; RUIZ-FERIA, C. A. Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. **Livestock Science**, v. 157, n. 2-3, p. 506-513, 2013.

ENGLERT, S. I. **Avicultura**: tudo sobre raças, manejo e nutrição. São Paulo: Agropecuária, 1998.

EWING, W. N.; COLE, D. J. A. **The living gut**: an introduction to microorganisms in nutrition. Leicestershire, p. 220, 1994.

FERNANDEZ-RUBIO, C.; ORDÓÑEZ, C.; ABAD-GONZÁLEZ, J.; GARCIA-GALLEGO, A.; PILAR HONRUBIA, M.; JOSE MALLO, J.; BALAÑA-FOUCE, R. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from *Salmonella* enteritidis infection. **Poultry Science**, v. 88, n. 5, p. 943-948, 2009.

FLEMMING, J. S.; FREITAS, R. J. S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

GANNES, L. Z.; DEL RIO, C. M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 119A, n. 3, p. 725-737, 1998.

GAUTHIER, R. Intestinal health, the key to productivity. *In*: CONVENTION ANECA-WPDC, 27., 2002. **Anais...** Puerto Vallarta. México. 2002.

GHEISAR, M.; HOSSEINDOUST, A.; KIM, I. H. Evaluating the effect of microencapsulated blends of organic acids and essential oils in broiler chickens diet. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 24, n. 4, p. 511-519, 2015.

GOTTMANN, R.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C.; DENADAI, J. C.; MÓRI, C.; MITUO, M. A. O.; SARTORI, J. R. Rastreabilidade de subprodutos de origem animal em dietas com levedura e trigo para frangos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1641-1647, 2008.

GRILLI, E.; MESSINA, M. R.; TEDESCHI, M.; PIVA, A. Feeding a microencapsulated blend of organic acids and nature identical compounds to weaning pigs improved performance and intestinal metabolism. **Livestock Science**, v. 133, p. 173–175, 2010.

GRILLI, E.; TUGNOLI, B.; FORMIGONI, A.; MASSI, P.; FANTINATI, P.; TOSI, G.; PIVA, A. Microencapsulated sorbic acid and nature-identical compounds reduced *Salmonella* Hadar and *Salmonella* Enteritidis colonization in experimentally infected chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 8, p.1676-1682, 2011.

GRILLI, E.; VITARI, F.; DOMENEGHINI, C.; PALMONARI, A.; TOSI, G.; FANTINATI, P.; MASSI, P.; PIVA, A. Development of a feed additive to reduce caecal *Campylobacter jejuni* in broilers at slaughter age: from *in vitro* to *in vivo*, a proof of concept. **Journal Of Applied Microbiology**, v. 114, n. 2, p. 308-317, 2012.

GROSCWITZ, K. R.; HOGAN, S. P. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 124, p. 3–20, 2009.

GUILLOTEAU, P.; MARTIN, L.; EECKHAUT, V.; DUCATELLE, R.; ZABIELSKI, R.; VAN IMMERSSEEL, F. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 366–384, 2010.

HAN, X.; SONG, H.; WANG, Y.; SHENG, Y.; CHEN, J. Sodium butyrate protects the intestinal barrier function in peritonitic mice. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, p. 4000–4007, 2015.

HUME, M. E.; CORRIER D. E.; IVIE, G. W.; DELOACH, J. R. Metabolism of [¹⁴C] propionic acid in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 72, p. 786-793, 1993.

IAFIGLIOLA, M. C.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; GAIOTTO, J. B. Cobre e antibiótico como promotores de crescimento em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 3, set. 2000.

JERZSELE, A.; SZEKER, K.; CSIZINSZKY, R.; GERE, E.; JAKAB, C.; MALLO, J. J.; GALFI, P. Efficacy of protected sodium butyrate, a protected blend of essential oils, their combination, and *Bacillus amylolique faciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 837-843, 2012.

JYUTHI SRI, S.; SURIA PRABHA, K.; MUTHUPRASANNA, P.; PAVITRA, P. Microencapsulation: A review. **International Journal of Biological Sciences**, v. 3, p. 509-531, 2012.

KACZMAREK, S. A.; BARRI, A.; HEJDYSZ, M.; RUTKOWSKI, A. Effect of different doses of coated butyric acid on growth performance and energy utilization in broilers. **Poultry Science**, v. 95, p. 851-859, 2016.

KAMAL, A. M.; RAGAA, N. M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance and serum biochemistry of broiler chicken. **Natural Science**, v. 12, n. 2, p. 38-45, 2014.

KAWAZOE, U. Coccidiose. *In*: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 391-405.

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

LAKSHMI K. V.; SUNDER, G. S. Supplementation of Propionic Acid (PA), Butyric Acid (BA) or Antibiotic (AB) in diets and their influence on broiler performance, carcass parameters and immune response. **International Journal of Science and Research**, v. 4, n. 3, p. 1002-1006, 2015.

LEESON, S.; NAMKUNG, H.; ANTONGIOVANNI, M.; LEE, E. H. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 84, p. 1418-1422, 2005.

LEONEL, A. J.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Butyrate: implications for intestinal function. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 15, p. 474-479, 2012.

LODDI, M. M., GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A.; ROÇA, R. O. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

LUQUETTI, B. C.; FARIA, H. N.; SILVA, B. R.; GIMENEZ, D.; CASAGRANDE, C.; LEITE, F. M.; CASTELLANI, R. S. Coccidiose aviária e agentes tróficos. **Ciência Agrárias de Saúde**, FEA, Andradina, v. 6, p. 60-67, 2006.

MA, X.; FAN, P. X.; LI, L. S.; QIAO, S. Y.; ZHANG, G. L.; LI, D. F. Butyrate promotes the recovering of intestinal wound healing through its positive effect on the tight junctions. **Journal of Animal Science**, v. 90 (Suppl 4), p. 266–268, 2012.

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

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. *In*: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep. 2008. p.113-120.

METGES, C.; KEMPE, K.; SCHMIDT, H. L. Dependence of the carbon isotope contents of breath carbon dioxide, milk, serum and rumen fermentation products on the $\delta^{13}\text{C}$ value of food in dairy cows. **British Journal of Nutrition**, v. 63, p. 187-196, 1990.

MEUNIER, J. P.; CARDOT, J. M.; GAUTHIER, P.; BEYSSAC, E.; ALRIC, M. Use of Rotary fluidized-bed technology for development of sustained-release plant extracts pellets: Potential application for feed additive delivery. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1850-1859, 2006.

O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry**, v. 20, p. 553-567, 1981.

OLIVEIRA, R. P.; DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DENADAI, J. C.; SARTORI, J. R.; CRUZ, V. C. Isotopic traceability in body tissues and in different breeding periods of broilers. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1325-1334, 2012.

PANDA, A. K.; RAO, S. R.; RAJU, M. V. L. N.; SUNDER, G. S. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 7, p. 1026-1031, 2009.

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

PELÍCIA, V. C.; ZAVARIZE, K. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PEZZATO, A. C.; ARAUJO, P. C.; MITUO, M. A. O.; MADEIRA, L. A.; SARTORI, J. R. Nucleotídeos na dieta de frangos de corte e seus efeitos sobre taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 9, p. 1652-1659, 2011.

PENG, L.; HE, Z.; CHEN, W.; HOLZMAN, I. R.; LIN, J.; Effects of butyrate on intestinal barrier function in a Caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier. **Pediatric Research**, v. 61, p. 37–41, 2007.

PENG, L.; LI, Z. R.; GREEN, R. S.; HOLZMAN, I. R.; LIN, J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. **Journal of Nutrition**, v. 139, p. 1619–1625, 2009.

PENZ, A. M.; SILVA, A. B.; RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. *In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS*, 1993, Santos **Anais...**São Paulo. Brasil: FACTA 1993. p.111-119.

PIVA, A.; ANFOSSI, P.; MEOLA, E.; PIETRI, A.; PANCIROLI, A.; BERTUZZI, T.; FORMIGONI, A. Effect of microencapsulation on absorption process in swine. **Livestock Production Science**, v. 51, n. 1, p. 53-61, 1997.

PIVA, A.; PIZZAMIGLIO, V.; MORLACCHINI, M.; TEDESCHI, M.; PIVA, G. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 486–493, 2007.

PODOLSKY, D.K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, many questions. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 264, p. 179-186, 1993.

POLYCARPO, G. V.; ANDRETTA, I.; KIPPER, M.; CRUZ-POLYCARPO, V. C.; DADALT, J. C.; RODRIGUES, P. H. M.; ALBUQUERQUE, R. Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, p. 3645-3653, 2017.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal and Feed Science**, v. 8, p. 25-33, 1998.

SABOUR, S.; TABEIDIAN, S. A.; SADEGHI, G. Dietary organic acid and fiber sources affect performance, intestinal morphology, immune responses and gut microflora in broilers. **Animal Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 156-162, 2019.

SALEEM, M. U.; MASOOD, S.; ZANEB, H.; DURRANI, A. Z.; ASLAM, A.; ASHRAF, K.; RASHID, M. I.; REHMAN, H.; REHMAN, M.; ASHRAF, S.; USMAN, M. M.; SHAHEEN, M. S. Combined supplementation of organic acid blend and hydrolyzed yeast mixture increases growth performance and tibia bone strength in broilers. **Indian Journal Of Animal Research**, v. 52, n. 11, p. 1613-1617, 2018.

SANTOS, S. A.; MEURER, R. F. P.; FRANÇA, M.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, E. G.; SILVA, A. V. F.; BORGES, S. A. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo diformiato de potássio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2491-2496, 2009.

SARTORI, M. M. P.; DENADAI, J. C.; SARTORI, J. R.; CAMPOS, D.; MACARI, M., PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Analysis of metabolic pools in broilers chicks. **Isotopes in Environmental and Health Studies**, v. 51, n. 4, p. 525-532, 2015.

SONG, B.; LI H. X., WU Y. Y., ZHEN W. R., WANG Z., XIA Z. F., GUO Y. M. Effect of microencapsulated sodium butyrate dietary supplementation on growth performance and intestinal barrier function of broiler chickens infected with necrotic enteritis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p. 6-15, 2017.

TAHERPOUR, K.; MORAVEJ, H.; SHIVAZAD, M.; ADIBMORADI, M.; YAKHCHALI, B. Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 10, p. 2329-2334, 2009.

THOMPSON, J. L.; HINTON, M. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on salmonellas in the crop. **British Poultry Science**, v. 38, p. 59-65, 1997.

TIMBERMONT, L.; LANCKRIET, A.; DEWULF, J.; NOLLET, N.; SCHWARZER, K.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Control of *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. **Avian Pathology**, v. 39, p. 117–121, 2010.

VAN IMMERSEEL, F.; BOYEN, F.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; BOHEZ, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of *Salmonella* in poultry. **Poultry Science**, v. 84, n. 12, p. 1851-1856, 2005.

VAN IMMERSEEL, F.; FIEVEZ, V.; DE BUCK, J.; PASMANS, F.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poultry Science**, v. 83, n. 1, p. 69-74, 2004.

VAN IMMERSEEL, F.; RUSSELL, J. B.; FLYTHE, M. D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**, v. 35, p. 182–188, 2006.

WANG, H. B.; WANG, P. Y.; WANG, X.; WAN, Y. L.; LIU, Y. C. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 57, p. 3126–3135, 2012.

ZHANG, W. H.; GAO, F.; ZHU, Q. F.; LI, C.; JIANG, Y.; DAI, S. F.; ZHOU, G. H. Dietary sodium butyrate alleviates the oxidative stress induced by corticosterone exposure and improves meat quality in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 90, p. 2592–2599, 2011a.

ZHANG, W. H.; JIANG, Y.; ZHU, Q. F.; GAO, F.; DAI, S. F.; CHEN, J.; ZHOU, G. H.; Sodium butyrate maintains growth performance by regulating the immune response in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 52, p. 292–301, 2011b.

**CAPÍTULO II - ÁCIDO BUTÍRICO LIVRE E MICROENCAPSULADO EM
ALTERNATIVA AOS ANTIBIÓTICOS EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE
DESAFIADOS COM *EIMERIA* SPP.**

1 INTRODUÇÃO

A pressão dos consumidores para retirar os antibióticos como promotores de crescimento das dietas de frangos de corte tem sido maior a cada ano, sendo necessárias cada vez mais pesquisas que visam buscar alternativas viáveis para substituí-los. Estudos utilizando ácidos orgânicos em dietas para frangos ainda são controversos, devido às diferenças existentes entre os tipos de ácidos utilizados, nível de inclusão e se as aves são ou não expostas a desafios microbiológicos.

A eficácia de aditivos zootécnicos usados na produção animal, como os ácidos orgânicos, ainda não pode ser equiparada à dos antibióticos promotores de crescimento. Na tentativa de reverter esta realidade, os estudos com ácidos orgânicos microencapsulados (protegidos) na dieta de frangos devem ser mais explorados, pois demonstram ter grande potencial para igualar ou mesmo aproximar seus resultados de desempenho em comparação aos antibióticos, em função de seu mecanismo de ação diferenciado ao dos ácidos orgânicos não protegidos, permitindo que grande parte de sua atuação aconteça no duodeno, área desejada do intestino para a sua atuação, possibilitando maior eficácia em relação a sua ação como antimicrobiano.

Ao mesmo tempo, a combinação de ácido orgânico livre e protegido poderá trazer maior efeito antimicrobiano, uma vez que o ácido protegido possui maior atuação na porção posterior do trato digestório (intestino delgado) e o ácido livre, na porção anterior (papo, proventrículo e moela), possibilitando ação acidificante em todo o trato digestório (POLYCARPO *et al.*, 2017), o que poderá melhorar aspectos morfofisiológicos intestinais e de desempenho zootécnico.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o uso de ácido butírico livre e microencapsulado, isolados ou associados, em substituição aos antibióticos promotores de crescimento nas dietas de frangos de corte sobre o desempenho zootécnico e a integridade intestinal de aves experimentalmente infectadas com *Eimeria* spp.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Câmpus de Dracena, no galpão para frangos de corte do Setor de Avicultura, entre os meses de Janeiro e Fevereiro de 2018. Para a presente pesquisa, todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, registrada com o protocolo nº 18/2017.

Como medida de manejo pré-inicial, o galpão, as cortinas e os equipamentos foram lavados e todas as práticas de manejo realizadas seguiram as orientações técnicas do manual da linhagem *Cobb* conforme as necessidades das aves. Os boxes foram equipados com bebedouro pendular automático e comedouro infantil do tipo tubular, que foram substituídos aos 10 dias de idade por comedouros adultos do tipo tubular. Os bebedouros eram lavados diariamente e suspensos de acordo com o crescimento das aves. A iluminação foi constante, com lâmpadas fluorescentes de 60 watts.

Para o aquecimento inicial dos pintos foi utilizado uma lâmpada infravermelha de 250 watts por boxe e retirada no sétimo dia de vida das aves. O controle da temperatura e da ventilação foi realizado manualmente, manejando-se as cortinas laterais do galpão e também por meio de ventiladores. Termômetros de máxima, mínima, bulbo seco, bulbo úmido e de globo negro foram utilizados para controle da temperatura e umidade relativa do ar, sendo aferidos os dados diariamente às 8h00, 12h00 e 17h00 horas.

As médias das temperaturas foram: instantânea $29,2 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$; máxima $32,0 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$; mínima $26,7 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$; globo negro $29,8 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ (Figura 1); bulbo seco $26,6 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$; bulbo úmido $22,8 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$. E a média de umidade relativa do ar foi de $72,8 \pm 9,3\%$ (Figura 2).

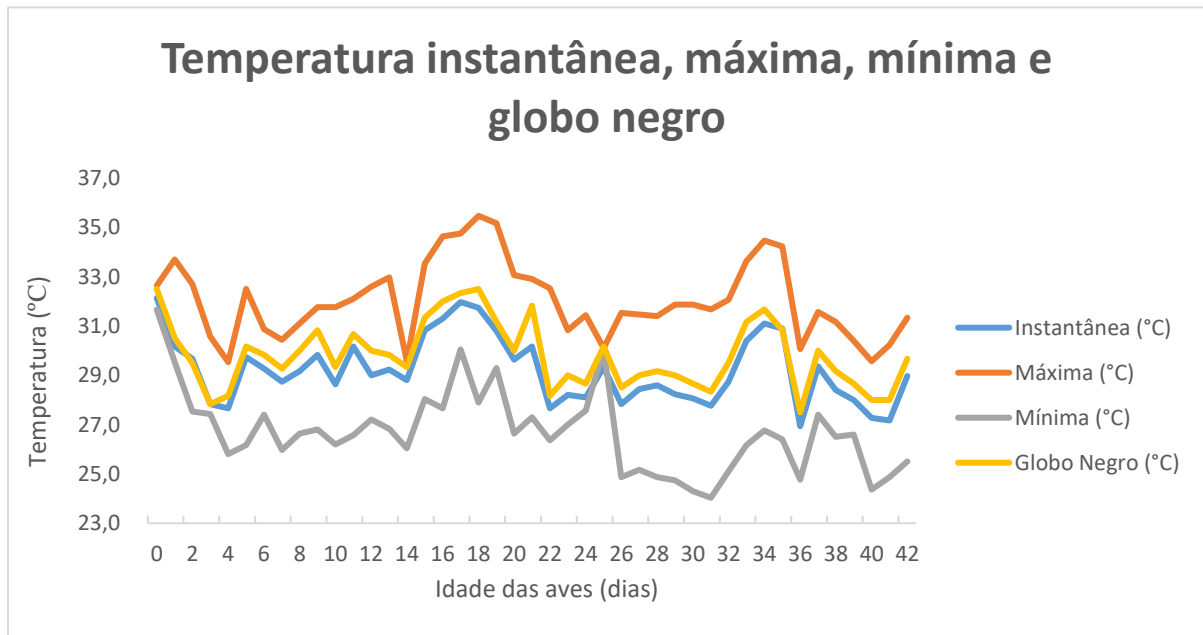


Figura 1. Temperatura instantânea, máxima, mínima e globo negro.

Fonte: Elaborada pela autora.

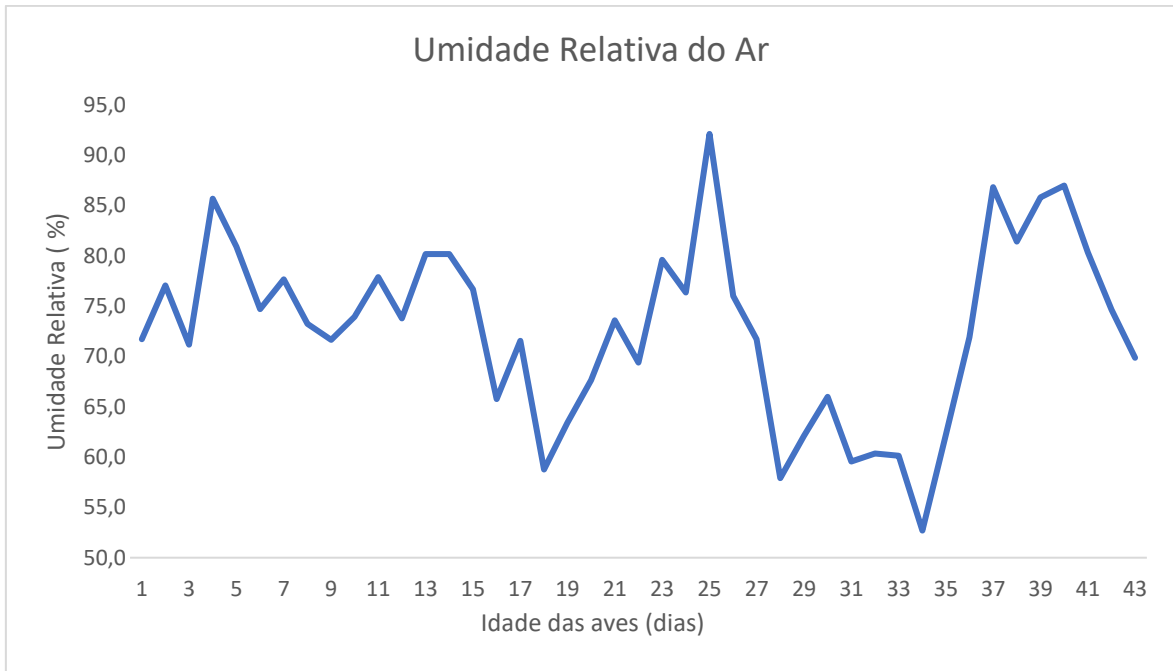


Figura 2. Umidade relativa do ar.
Fonte: Elaborada pela autora.

2.1 Aves e Tratamentos

Foram alojados 1.320 pintos de corte, machos, com um dia de idade, da linhagem *Cobb*[®], provenientes de um incubatório comercial, vacinados previamente contra Gumboro, Marek e Bouba aviária, criados até os 42 dias de idade. As aves foram alojadas em aviário experimental com 30 boxes de 2,5m² (Figura 3), sendo distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições, contendo 44 aves por repetição, criadas em piso com cama de casca de arroz. Os tratamentos experimentais foram:

CN - Ração basal;

L - Ração basal + ácido butírico livre;

M - Ração basal + ácido butírico microencapsulado;

L+M - Ração basal + ácido butírico livre + ácido butírico microencapsulado;

CP - Ração basal + antibiótico e anticoccidiano.



Figura 3. Vista interna do galpão de frangos de corte.
Fonte: Elaborada pela autora.

Antes do alojamento, foram aferidos o peso médio inicial dos pintos para calcular a distribuição do peso médio dos boxes, que foi de 48,2 gramas, ficando dentro de uma faixa com no máximo 5% de amplitude (2,5% para baixo até 2,5% para cima) em relação à média, afim de que não ocorresse efeito do peso médio inicial das aves no experimento ($P > 0,05$).

2.2 Rações Experimentais

O período de criação foi dividido em apenas duas fases: inicial, 1 a 21 dias de idade e crescimento, 22 a 42 dias de idade (Tabela 1), para evitar variação nos valores isotópicos das dietas. As exigências nutricionais das aves foram estabelecidas para cada fase de criação segundo as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno *et al.* (2017). As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja quando as dietas eram compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_4 , e formuladas a base de quirera de arroz e farelo de soja quando as dietas eram compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_3 . Água e ração foram fornecidas *ad libitum*.

Os suplementos vitamínico e mineral utilizados em todos os tratamentos experimentais não continham promotores de crescimento (antibióticos, anticoccidianos, quimioterápicos e outros), sendo fornecidos numa dosagem compatível com as respectivas fases de criação, estando sempre de acordo com as recomendações do fabricante.

Os tratamentos foram obtidos pela inclusão dos aditivos em substituição ao caulim. Fase inicial: Dieta sem aditivo (controle negativo): 0,1% de caulim. Dieta com ácido butírico livre: 0,1% de ácido butírico livre. Dieta com ácido butírico microencapsulado: 0,1% de ácido butírico microencapsulado. Dieta com ácido butírico livre e microencapsulado: 0,05% de ácido butírico livre + 0,05% de ácido microencapsulado. Dieta com antibiótico e anticoccidiano (controle positivo): 0,005% de avilamicina + 0,03% de monensina sódica + 0,065% de caulim. Fase de crescimento: Dieta sem aditivo (controle negativo): 0,05% de caulim. Dieta com ácido butírico livre: 0,05% de ácido butírico livre. Dieta com ácido butírico microencapsulado: 0,05% de ácido butírico microencapsulado. Dieta com ácido butírico livre e microencapsulado: 0,025% de ácido butírico livre + 0,025% de ácido microencapsulado. Dieta com antibiótico e anticoccidiano (controle positivo): 0,005% de avilamicina + 0,03% de monensina sódica + 0,015% de caulim.

Tabela 1. Composição centesimal e valores calculados das dietas experimentais.

Ingredientes, %	Dietas ¹	
	Inicial	Crescimento
Milho	-	57,39
Arroz	47,05	-
Farelo de soja	42,01	33,56
Óleo de soja	6,720	5,764
Cloreto de colina 60	0,099	0,069
Sal comum	0,510	0,481
Fosfato bicálcico	1,888	1,214
Calcário calcítico	0,854	0,837
L-lisina	0,152	0,174
DL-metionina	0,356	0,260
L-treonina	0,114	0,042
L-valina	0,004	0,010
Suplemento mineral ²	0,050	0,050
Suplemento vitamínico ³	0,100	0,100
Caulim ⁴	0,100	0,050
Total	100,0	100,0
Valores calculados		
EMA, kcal/kg	3.025	3.172
PB, %	23,00	19,75
Metionina ⁵ , %	0,659	0,529
Metionina + cistina ⁵ , %	0,942	0,797
Lisina ⁵ , %	1,273	1,077
Treonina ⁵ , %	0,840	0,711
Valina ⁵ , %	0,980	0,829
Cálcio, %	0,909	0,705
Fósforo ⁵ , %	0,381	0,301
Sódio, %	0,220	0,203
Colina, mg/kg	514,0	361,1
Ácido linoléico, %	3,992	4,356
Valores Analisados		
δ ¹³ C (‰)	-29,95	-20,00

¹Inicial, 1 a 21 dias de idade; crescimento, 22 a 42 dias de idade.

²Suplemento mineral para frangos de corte (níveis de garantia por kg de ração): Cu, 9 mg; I, 1 mg; Zn, 60 mg; Fe, 30 mg; Mn, 60 mg.

³Suplemento vitamínico para frangos de corte na fase inicial (níveis de garantia por kg de ração): vitamina A, 11.000,00 UI; vitamina D3, 2.000,00 UI; vitamina E, 16,00 UI; vitamina K3, 1,50 mg; vitamina B1, 1,20 mg; vitamina B2, 4,50 mg; vitamina B6, 2,00 mg; vitamina B12, 16,00 mcg; ácido fólico, 0,40 mg; ácido pantotênico, 9,20 mg; biotina, 0,06 mg; niacina, 35 mg; Se, 0,25 mg. Suplemento vitamínico para frangos de corte na fase de crescimento (níveis de garantia por kg de ração): vitamina A, 9.000,00 UI; vitamina D3, 1.600,00 UI; vitamina E, 14,00 UI; vitamina K3, 1,50 mg; vitamina B1, 1,00 mg; vitamina B2, 4,00 mg; vitamina B6, 1,80 mg; vitamina B12, 12,00 mcg; ácido fólico, 0,30 mg; ácido pantotênico, 8,28 mg; biotina, 0,05 mg; niacina, 30 mg; Se, 0,25 mg.

⁴Os tratamentos foram obtidos pela inclusão dos aditivos em substituição ao caulim. Fase inicial: Dieta sem aditivo, 0,1% de caulim. Dieta com ácido butírico livre, 0,1% de ácido butírico livre. Dieta com ácido butírico microencapsulado, 0,1% de ácido butírico microencapsulado. Dieta com ácido butírico livre e microencapsulado, 0,05% de ácido butírico livre + 0,05% de ácido microencapsulado. Dieta com antibióticos: 0,005% de avilamicina + 0,03% de monensina sódica + 0,065% de caulim. Fase de crescimento: Dieta sem aditivo, 0,05% de caulim. Dieta com ácido butírico livre, 0,05% de ácido butírico livre. Dieta com ácido butírico microencapsulado, 0,05% de ácido butírico microencapsulado. Dieta com ácido butírico livre e microencapsulado, 0,025% de ácido butírico livre + 0,025% de ácido microencapsulado. Dieta com antibióticos: 0,005% de avilamicina + 0,030% de monensina sódica + 0,015% de caulim.

⁵Valores digestíveis.

Os ácidos butíricos utilizados neste experimento são produtos comerciais e foram doados pela empresa responsável pelos produtos. O ácido microencapsulado utilizado contém 30% de butirato de sódio revestido em óleo de palma, com inclusão de 1 kg/t na fase inicial e 0,5 kg/t na fase final (Figura 4A). O ácido butírico livre contém 90% de butirato de sódio na forma livre, com inclusão de 1 kg/t na fase inicial e 0,5 kg/t na fase final (Figura 4B). A diferença na porcentagem de ácido butírico em cada produto é devido a forma de atuação de cada um deles. O ácido na forma livre começa a ser dissociado assim que entra no organismo da ave. Devido ao contato com os órgãos do trato digestório que possuem pH ácido, quando este atinge o intestino delgado a concentração já não é mais a mesma oferecida inicialmente. Já, o ácido microencapsulado que tem a proteção do óleo de palma, chega ao local desejado de atuação em maior concentração, devido aos lipídios serem digeridos apenas no começo do intestino delgado, prevenindo a dissociação deste ácido nos órgãos anteriores.

O antibiótico utilizado foi a avilamicina 20% (50 g/t, com 10 g de atividade de avilamicina) e o anticoccidiano foi a monensina sódica 40% (300 g/t, com 120 g de princípio ativo).

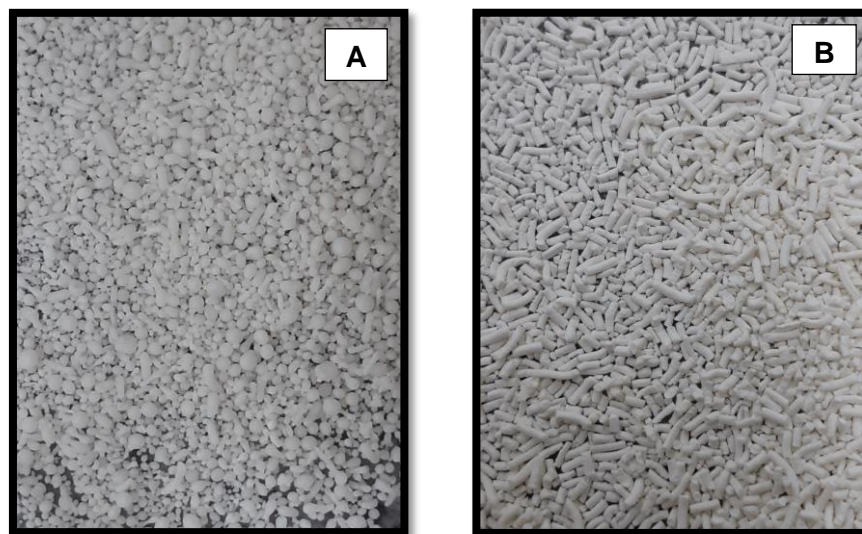


Figura 4. Grânulos de ácido butírico microencapsulado em óleo de palma (A) e grânulos de ácido butírico livre (B).

Fonte: Elaborada pela autora.

2.3 Desafio Sanitário

Com a intenção de causar desafio sanitário às aves, foi criado um protocolo que consistiu em inocular via oral, aos 16 dias de idade (PELÍCIA *et al.*, 2015), 0,5 mL de solução contendo *Eimeria acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*. Para causar lesões

moderadas, as concentrações utilizadas foram de 2×10^5 oocistos esporulados/ave de *E. acervulina* e 2×10^4 para *E. maxima* e *E. tenella* (HOLDSWORTH *et al.*, 2004), sendo todas acondicionadas em um *becker* e diluídas em água destilada. O processo de inoculação ocorreu individualmente, em que cada uma das aves foi contida manualmente e com o auxílio de uma pipeta automática receberam então a solução (Figura 5), aumentando assim a veracidade do desafio.



Figura 5. Inoculação via oral dos oocistos de *Eimeria* spp.
Fonte: Elaborada pela autora.

2.4 Análise isotópica

Os pintos de corte foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_4 (milho). Estes, ao nascerem, possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de ^{13}C semelhantes ao destas dietas ($\delta^{13}C = -18,95\text{‰}$). Após o alojamento, para avaliar o *turnover* na mucosa intestinal através de análise isotópica do tecido, e assim determinar se o uso dos ácidos butíricos livre e microencapsulado influenciaram no desenvolvimento da mucosa intestinal, os pintos de um dia de idade receberam dietas compostas predominantemente por plantas

do ciclo C₃ (arroz) ($\delta^{13}\text{C} = -29,95\text{‰}$), possuindo valor isotópico de ¹³C diferente das dietas C₄ fornecida às matrizes.

Aos 0; 1; 2; 3; 4; 7; 14 e 21 dias de idade foram retiradas aleatoriamente seis aves por tratamento, sacrificadas por deslocamento da articulação atlanto-occipital, e colhidas amostras de mucosa do intestino delgado na altura do duodeno (toda alça proximal e distal) por meio de raspagem com lâmina de vidro e acondicionadas em tubos plásticos de 1 mL (Figura 6), identificadas e imediatamente congeladas a -18°C até a sua preparação para as análises isotópicas.



Figura 6. Coleta de mucosa intestinal da alça duodenal por meio de raspagem.
Fonte: Elaborada pela autora.

Após o desafio sanitário, realizado aos 16 dias de idade, houve uma nova coleta de mucosa intestinal procedendo-se do mesmo modo descrito para a fase anterior. Como o ciclo das espécies de *Eimerias* usadas neste estudo é de 4 a 5 dias provocando as primeiras lesões no epitélio intestinal, a partir dos 21 dias de idade as aves passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C₄ (milho), possuindo sinal isotópico de ¹³C diferente da dieta oferecida na fase inicial ($\delta^{13}\text{C} = -20\text{‰}$). A mudança na composição da dieta objetivou provocar alteração no sinal isotópico do tecido animal para captar a velocidade na taxa de *turnover* da mucosa intestinal após o desafio, e com isso,

determinar se o uso dos ácidos butíricos livre e microencapsulado favoreceram a recuperação da mucosa intestinal. Foram colhidas amostras de mucosa aos 22; 24; 28; 35 e 42 dias de idade.

3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

3.1 Desempenho

As variáveis analisadas foram: ganho de peso médio (GPM), calculado nos períodos acumulados de 1 a 14, 1 a 21 e 1 a 42 dias, avaliado pela diferença entre o peso corporal médio no período e o peso corporal médio no alojamento; consumo de ração médio (CRM), mensurado pela diferença entre a ração fornecida e a consumida, corrigido pelo número de aves mortas; conversão alimentar (CA), obtida pela razão entre o CRM e o GPM das aves, corrigido pelo peso das aves mortas. A viabilidade de cada unidade experimental foi obtida pela subtração: 100 – mortalidade. A mortalidade foi medida diariamente entre às 7h00 e 19h00, sendo que as aves mortas depois das 19h00 entraram na contagem da mortalidade do dia seguinte. O valor obtido foi calculado em porcentagem. O índice de eficiência produtiva foi avaliado ao final do experimento (42 dias de idade) pela seguinte fórmula:

$$\text{IEP} = (((\text{VIAB} \times \text{GPMD}) / \text{CA}) / 10)$$

Onde: IEP = índice de eficiência produtiva; VIAB = viabilidade (%); GPMD = ganho de peso médio diário (g), calculado com o ganho de peso médio dividido pelo número de dias do experimento; CA = conversão alimentar.

3.2 Morfometria intestinal

Aos 14 e 21 dias de idade, seis aves por tratamento foram utilizadas para estudo morfológico por microscopia de luz. Para a realização das análises histológicas foram colhidos dois segmentos de 3 cm do duodeno e do jejuno. Os segmentos, após serem lavados em solução fisiológica, foram abertos pela sua borda mesentérica, estendidos pela túnica serosa, fixados em formol 10% por um período de 24 horas e armazenados em álcool 70%. Em seguida, o material foi submetido à desidratação, por tratamento com álcool em concentrações crescentes (70-100%). As amostras foram então diafanizadas em xilol e incluídas em Paraplast plus[®]. Foram preparadas lâminas de cada segmento com cortes de cinco micrômetros de espessura, e posteriormente coradas com Hematoxilina e Eosina (HE).

Após o procedimento de coloração, com auxílio de um microscópio ótico da marca Olympus BX43, contendo uma câmara acoplada, foram realizadas fotografias das lâminas. As fotos foram utilizadas para a realização das medições por meio do sistema analisador de imagens *cellSens Standard*, pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Unesp – Câmpus de Dracena. Foram realizadas medidas de altura e largura das vilosidades e de profundidade de criptas do duodeno e jejuno (Figura 7). Foram efetuadas 15 medidas de cada parâmetro por animal. As medidas de altura de vilosidades foram realizadas com objetiva de 4x e tomadas a partir de sua região basal, coincidente com a porção superior das criptas, até seu ápice; a mensuração da largura do ápice e da base foram realizadas de uma extremidade à outra da vilosidade com objetiva de 10x; e as criptas, da sua base até a região de transição cripta:vilosidade na objetiva de 10x (PELICANO *et al.*, 2003).



Figura 7. Demonstração das medidas realizadas no duodeno aos 14 dias.
Fonte: Elaborada pela autora.

3.3 Contagem de células caliciformes intestinais

Aos 14 e 21 dias de idade, as mesmas seis aves por tratamento utilizadas para o estudo morfológico por microscopia de luz foram utilizadas para esta análise. Para a realização das análises histológicas foram colhidos dois segmentos de 3 cm do duodeno e do jejuno. Os segmentos, passaram pelos mesmo processos laboratoriais descritos na análise anterior. No Laboratório de Nutrição do *Prestage Department of Poultry Sciences* na *North Carolina State University*, localizado na Carolina do Norte, EUA, foram preparadas lâminas de cada segmento com cortes de cinco micrômetros de espessura, e posteriormente coradas com Alcian Blue e Nuclear Fast Red (Figura 8).



Figura 8. Desidratação com álcool e coloração dos cortes histológicos.
Fonte: Elaborada pela autora.

Após o procedimento de coloração, foram realizadas fotografias dos cortes utilizando um microscópio óptico (AmScop T340B) com objetiva de 4x acoplado a uma câmera digital (AmScop digital MU1000). Essas fotografias foram analisadas pelo sistema de imagem AmScop 3.7. A contagem foi realizada em toda a extensão do vilão, sendo quantificado o número total de células caliciformes presentes em 10 vilões, obtendo-se a média do número de células caliciformes por vilão de cada segmento intestinal por ave (Figura 9).

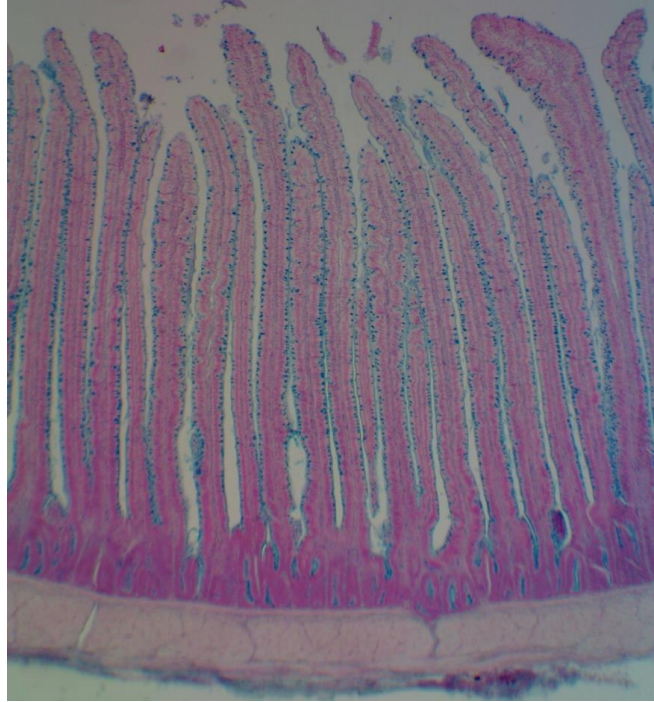


Figura 9. Segmento do duodeno com células caliciformes coradas com Alcian Blue.
Fonte: Elaborada pela autora.

3.4 Contagem de oocistos e escores de lesão do epitélio intestinal

Aos 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação, ou seja, 20, 21, 22 e 23 dias de idade, foram coletadas amostras de excretas de cada unidade experimental para contagem de oocistos. As fezes mais frescas presentes na cama no período da manhã, foram coletadas, guardadas em sacos plásticos individuais, identificadas, e armazenadas na geladeira até a data da análise. Para a realização da análise, as amostras foram homogeneizadas e pesados dois gramas de cada amostra para diluição em 28 mL de solução saturada de NaCl (GORDON; WITHLOCK, 1939). Após agitação, a solução foi filtrada e uma alíquota foi introduzida em câmara de *MacMaster* na qual a contagem foi realizada com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 10x. Os resultados dessa contagem foram expressos em número de oocistos por grama de fezes (oopg) (HODGSON, 1970).

Aos 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28 e 35 dias de idade, ou seja, aos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 e 19 após inoculação com as *Eimerias*, foram avaliados os escores de lesão no intestino delgado (JOHNSON e REID, 1970), sendo realizada separadamente para cada espécie de *Eimeria*.

A metodologia de leitura para *E. acervulina* consistiu em: lesão zero (ausência de lesões), um (pontos ou estrias brancas esparsas até 5 por cm² e restritas ao duodeno), dois (pontos ou estrias brancas mais numerosas que se estendem até o meio do duodeno), três

(pontos ou estrias brancas já coalescentes com redução de tamanho se estendendo até o divertículo; parede intestinal engrossada) e quatro (pontos e estrias brancas completamente coalescentes dando à mucosa do intestino uma coloração acinzentada; lesões típicas somente no intestino médio; parede intestinal engrossada). A metodologia de leitura para *E. maxima* consistiu em: lesão zero (ausência de lesões), um (pequenas petéquias avermelhadas no duodeno; pequena quantidade de muco alaranjado), dois (superfície serosa salpicada com numerosas petéquias vermelhas, intestino com muco alaranjado), três (parede intestinal intumescida e espessa; superfície mucosa é rugosa e com muco alaranjado), quatro (parede intestinal fortemente espessada; contêm numerosos coágulos). A metodologia de leitura para *E. tenella* consistiu em: lesão zero (ausência de lesões), um (poucas petéquias espalhadas pela parede do ceco), dois (lesões com sangue mais numerosas no conteúdo cecal), três (parede intestinal espessada; grande quantidade de sangue), quatro (parede cecal muito distendida; bolsas cecais com sangue).

3.5 Turnover da mucosa intestinal

Para a realização das análises isotópicas, as amostras foram descongeladas e desidratadas pelo processo de liofilização a -54°C por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram pesadas de 50 a 70 μg em cápsulas de estanho e introduzidas no Analisador Elementar EA 1108 CHN acoplado ao espectrômetro de massa DELTA-S do Centro de Isótopos Estáveis - Instituto de Biociências - UNESP, câmpus de Botucatu. As amostras foram queimadas quantitativamente para obtenção de CO_2 .

Os resultados foram expressos em notação $\delta^{13}\text{C}$, em relação ao padrão *Peedee Belemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela equação 1:

$$(1) \delta^{13}\text{C} (\text{amostra, padrão}) = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 10^3$$

Onde: $\delta^{13}\text{C}$ = enriquecimento relativo da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra em relação ao padrão PDB (adimensional); R = razão isotópica ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) da amostra e do padrão (adimensional).

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono das dietas na mucosa intestinal das aves depois de determinado intervalo de tempo, foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (DUCATTI *et al.*, 2002), utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do software OriginPro[®] 8 Professional (Microcal Software, 2018):

$$(2) \delta^{13}\text{C}(t) = \delta^{13}\text{C}(f) + [\delta^{13}\text{C}(i) - \delta^{13}\text{C}(f)]e^{-kt}$$

Onde: $\delta^{13}\text{C}(t)$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t) (adimensional); $\delta^{13}\text{C}(f)$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final (adimensional); $\delta^{13}\text{C}(i)$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial (adimensional); k = constante de troca (*turnover*) em unidades de tempo⁻¹; t = tempo (em dias) desde a substituição da ração.

A meia vida ($T_{50\%}$) do ^{13}C na mucosa intestinal na condição de substituição de 50% dos átomos de ^{13}C foi mensurada pela equação 3:

$$(3) T = \ln 2/k$$

Onde: T = meia vida em unidade de tempo (dias); \ln = logaritmo niperiano; k = constante do *turnover*, unidade: tempo⁻¹, dando uma percepção de “velocidade” no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (DUCATTI *et al.*, 2002; DUCATTI, 2005).

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises dos dados foram realizadas com auxílio do SAS Institute (2012) com critério de 5% de significância. Primeiramente, foram realizadas as análises de normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e de homogeneidade das variâncias. Os dados que não apresentaram normalidade residual pelo teste de Shapiro-Wilk foram submetidos a transformação logarítmica e transformação arco-seno. Posteriormente, obedecendo às premissas citadas, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo PROC GLM por meio de contrastes ortogonais, conforme descrito a seguir:

Tabela 2. Esquema dos contrastes ortogonais que foram aplicados para avaliar o efeito dos tratamentos.

Contraste	Dietas				
	Controle negativo (CN)	Ácido butírico (AB)			Controle positivo (CP)
		Livre (L)	Microencapsulado (M)	L + M	
Efeito de Aditivo	+4	-1	-1	-1	-1
AB vs. CP	0	+1	+1	+1	-3
Isolados vs. mistura	0	+1	+1	-2	0
L vs. M	0	+1	-1	0	0

O primeiro contraste comparou o efeito do tratamento controle negativo contra os tratamentos contendo aditivos na dieta. Já o segundo contraste comparou o efeito do ácido butírico contra o do controle positivo, para verificar se o ácido é um possível substituto adequado. O terceiro contraste comparou o efeito do ácido nas formas isoladas contra a mistura dos ácidos, com a finalidade de avaliar se estes ácidos atuam melhor misturados (L+M) ou isolados. O quarto contraste comparou o efeito do ácido butírico livre contra o microencapsulado, com o intuito de avaliar o incremento tecnológico do microencapsulamento nesse aditivo.

As variáveis resposta que mediram o grau de infecção das aves, escore de lesão e contagem de oocistos foram avaliadas ao longo do tempo (coletas seriadas). Portanto, nessas variáveis o efeito do tempo foi considerado por meio do statement REPEATED.

As análises de *turnover* de mucosa intestinal intra-tratamento (renovação celular ao longo do tempo) foram realizadas pelo método de regressão exponencial, conforme mencionado na metodologia dessa análise.

5 RESULTADOS

5.1 Desempenho

Na fase de 1 a 14 dias observa-se que o grupo dos aditivos não proporcionou melhorias no desempenho em relação ao grupo controle negativo (Tabela 3), com exceção da viabilidade que mostrou-se significativamente superior nos grupos que receberam ácido butírico, independente da forma, e no grupo controle positivo, em comparação ao grupo controle negativo.

Tabela 3. Desempenho de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Desempenho 1 a 14 dias ¹			
	GP, g	CR, g	CA	VB, %
Controle negativo	311,7	384,0	1,241	97,73
Ácido butírico Livre (L)	309,8	395,8	1,282	98,86
Ácido butírico Microencapsulado (M)	325,6	394,8	1,206	99,24
Ácido butírico L+M	302,0	377,6	1,252	98,49
Controle positivo (CP)	342,9	404,0	1,173	100,00
EPM ²	3,72	3,01	0,012	0,28
Contrastes ³	Probabilidade			
Efeito de aditivo	0,242	0,182	0,637	0,042
Butírico vs. CP	< 0,001	0,043	0,010	0,109
Isolados vs. Mistura	0,049	0,022	0,779	0,442
L vs. M	0,083	0,903	0,027	0,654

¹GP, ganho de peso; CR, consumo de ração; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

Aves que receberam ácido butírico na dieta mostraram GP e CR inferiores, além de pior CA, em comparação às aves que receberam antibiótico. Aves que receberam a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado apresentaram inferior GP e CR que aves que receberam estes ácidos na forma isolada, mostrando que o fornecimento combinado dos ácidos não beneficiou o desempenho dos frangos nesta fase.

A comparação entre aves que receberam ácido butírico na forma livre ou microencapsulada não mostrou diferenças para nenhuma das variáveis de desempenho estudadas, a exceção da CA que se mostrou significativamente melhor no grupo de aves que recebeu este ácido na forma microencapsulada.

Assim como na fase anterior, no período de 1 a 21 dias de idade, nota-se que o grupo dos aditivos não proporcionou melhorias no desempenho com relação ao grupo controle negativo (Tabela 4). Esse resultado foi influenciado pelos tratamentos com ácido butírico, que não se diferenciaram ou até mesmo apresentaram resultado inferior que o tratamento sem aditivo (controle negativo).

Tabela 4. Desempenho de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Desempenho 1 a 21 dias ¹			
	GP, g	CR, g	CA	VB, %
Controle negativo	492,1	745,4	1,431	96,21
Ácido butírico Livre (L)	474,0	753,1	1,512	98,11
Ácido butírico Microencapsulado (M)	489,8	751,9	1,376	95,07
Ácido butírico L+M	458,4	719,0	1,456	95,83
Controle positivo (CP)	604,9	819,6	1,292	99,62
EPM ²	10,21	7,19	0,017	0,49
Contrastes ³	Probabilidade			
Efeito de aditivo	0,116	0,130	0,409	0,366
Butírico vs. CP	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,005
Isolados vs. Mistura	0,025	0,005	0,661	0,509
L vs. M	0,177	0,925	< 0,001	0,028

¹GP, ganho de peso; CR, consumo de ração; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

Em todas as respostas de desempenho, o controle positivo foi superior ($P=0,001$) em relação ao grupo de tratamentos que receberam dietas com ácido butírico. A mistura de ácido butírico livre + microencapsulado não incrementou os dados de desempenho. Sobre o GP e CR, a mistura dos ácidos prejudicou o resultado, que ficou abaixo do tratamento controle negativo.

A comparação entre aves que receberam ácido butírico na forma livre ou microencapsulada mostrou diferenças para CA e VB, sendo a CA significativamente melhor no grupo de aves que recebeu este ácido na forma microencapsulada. Porém, a viabilidade deste tratamento foi inferior ($P=0,028$), apesar de apresentar-se dentro de um nível aceitável ($< 5\%$).

Na análise do período total de criação, 1 a 42 dias, (Tabela 5), ficou evidente a superioridade do antibiótico e anticoccidiano (controle positivo) como aditivo melhorador de desempenho, e o ácido butírico, tanto livre como microencapsulado, isolado ou associado, ficou aquém dos benefícios do aditivo químico.

Tabela 5. Desempenho de frangos de corte aos 42 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Desempenho de 1 a 42 dias ¹				
	GP, g	CR, g	CA	VB, %	FP
Controle negativo	2228	3018	1,580	94,32	317,3
Ácido butírico Livre (L)	2141	3032	1,633	96,21	301,1
Ácido butírico Microencapsulado (M)	2178	2967	1,608	93,18	301,2
Ácido butírico L+M	2118	2876	1,617	93,56	292,3
Controle positivo (CP)	2570	3429	1,487	99,24	409,1
EPM ²	35,61	44,28	0,012	0,644	9,27
Contrastes ³	Probabilidade				
Efeito de aditivo	0,635	0,432	0,761	0,363	0,500
Butírico vs. CP	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
Isolados vs. Mistura	0,440	0,131	0,858	0,442	0,527
L vs. M	0,555	0,482	0,330	0,083	0,993

¹GP, ganho de peso; CR, consumo de ração; CA, conversão alimentar; VB, viabilidade; FP, fator de produção.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

5.2 Morfometria Intestinal

Não houve diferença significativa entre os grupos estudados para a morfometria do duodeno aos 14 dias (Tabela 6).

Tabela 6. Morfometria (μm) do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Duodeno				Jejuno			
	AV ¹	LB	LA	PC	AV	LB	LA	PC
Controle negativo	1260,14	93,14	81,88	113,24	415,61	78,59	85,69	75,49
Ácido butírico Livre (L)	1205,67	100,09	82,02	119,68	518,56	76,47	81,50	92,47
Ácido butírico Microencapsulado (M)	1222,35	95,06	86,67	127,38	452,74	77,61	83,78	69,42
Ácido butírico L+M	1234,32	93,56	88,31	131,99	520,16	77,46	89,80	96,31
Controle positivo (CP)	1242,48	95,17	82,00	124,64	503,58	78,57	82,80	81,03
EPM ²	34,88	1,85	0,99	4,45	16,99	1,86	1,31	3,30
Contrastes ³	Probabilidade				Probabilidade			
Efeito de aditivo	0,720	0,562	0,216	0,283	0,049	0,834	0,707	0,213
Butírico vs CP	0,824	0,833	0,131	0,888	0,886	0,791	0,509	0,510
Isolados vs mistura	0,844	0,456	0,144	0,510	0,438	0,939	0,052	0,066
L vs M	0,889	0,419	0,115	0,603	0,205	0,859	0,580	0,019

¹AV, altura de vilosidade; LB, largura da base da vilosidade; LA, largura do ápice da vilosidade; PC, profundidade de cripta.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

Ao analisar-se o jejuno, notou-se que o grupo dos aditivos proporcionou melhorias na altura das vilosidades em relação ao grupo controle negativo, e ao comparar o fornecimento livre e microencapsulado dos ácidos, foi observada diferença na profundidade de cripta, a qual apresentou-se significativamente maior no grupo de aves que recebeu o ácido na forma livre.

Não houve diferença significativa entre os grupos estudados sobre a morfometria do jejuno aos 21 dias de idade (Tabela 7). Ao analisar o duodeno, nota-se que o grupo dos aditivos proporcionou melhorias na altura das vilosidades em relação ao grupo controle negativo. O grupo controle positivo apresentou maior altura e largura de suas vilosidades e ainda maior profundidade de cripta que os grupos que receberam ácido butírico na forma isolada ou misturada, livre ou microencapsulada. Observou-se ainda que, aves que receberam ácido butírico na forma livre apresentaram maior largura do ápice da vilosidade que aves que o receberam na forma microencapsulada.

Tabela 7. Morfometria (μm) do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Duodeno				Jejuno			
	AV ¹	LB	LA	PC	AV	LB	LA	PC
Controle negativo	434,44	91,96	100,52	138,12	606,20	89,99	92,49	101,53
Ácido butírico Livre (L)	591,62	102,16	103,91	147,46	502,20	98,03	95,79	106,14
Ácido butírico Microencapsulado (M)	519,24	91,02	90,26	142,84	531,34	104,82	91,69	107,39
Ácido butírico L+M	488,43	94,00	98,01	149,30	526,73	100,28	95,11	105,07
Controle positivo (CP)	1066,63	116,05	99,03	190,21	571,60	97,82	91,04	109,22
EPM ²	52,43	3,25	1,97	8,06	21,48	2,39	1,62	3,46
Contrastes ³	Probabilidade				Probabilidade			
Efeito de aditivo	0,006	0,234	0,575	0,326	0,194	0,099	0,831	0,562
Butírico vs CP	< 0,001	0,012	0,745	0,039	0,372	0,606	0,479	0,754
Isolados vs mistura	0,438	0,750	0,863	0,847	0,870	0,862	0,771	0,869
L vs M	0,481	0,256	0,041	0,858	0,678	0,378	0,453	0,916

¹AV, altura de vilosidade; LB, largura da base da vilosidade; LA, largura do ápice da vilosidade; PC, profundidade de cripta.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

5.3 Contagem de células caliciformes intestinais

Não houve diferença significativa para o número de células caliciformes por vilo do duodeno aos 14 dias (Tabela 8). No jejuno, os grupos suplementados com ácido butírico associados proporcionaram maior número de células por vilo ($P < 0,001$) do que quando suplementados de forma isolada. Ao comparar o fornecimento isoladamente, o grupo que recebeu o ácido na forma livre apresentou maior número ($P = 0,033$) de células caliciformes por vilo que o grupo suplementado com o ácido na forma microencapsulada.

Tabela 8. Número de células caliciformes por vilo do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 14 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Duodeno	Jejuno ¹
Controle negativo	169,67	71,42
Ácido butírico Livre (L)	130,33	66,18
Ácido butírico Microencapsulado (M)	159,33	57,40
Ácido butírico L+M	151,50	81,04
Controle positivo (CP)	147,00	72,20
EPM ²	6,89	2,17
Contrastes ³	Probabilidade	Probabilidade
Efeito de aditivo	0,204	0,494
Butírico vs. CP	0,998	0,359
Isolados vs. Mistura	0,729	<0,001
L vs. M	0,199	0,033

¹Dados passaram pela transformação arco seno.

²EPM, erro padrão da média.

³Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

Os resultados para a contagem de células caliciformes por vilo aos 21 dias encontram-se na Tabela 9. No duodeno, o grupo suplementado do controle positivo apresentou maior número de células caliciformes por vilo ($P < 0,001$) do que os grupos suplementados com o ácido butírico.

No jejuno, os ácidos estarem associados ou não, não mostrou ter diferença significativa. Mas, quando fornecidos separadamente, o grupo que recebeu o ácido na forma livre exibiu maior quantidade de células caliciformes por vilo ($P = 0,022$) que o grupo que o recebeu na forma microencapsulada.

Tabela 9. Número de células calciformes por vilo do duodeno e jejuno de frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com ácido butírico livre e microencapsulado em alternativa aos antibióticos.

Efeitos	Duodeno	Jejuno
Controle negativo	89,17	123,33
Ácido butírico Livre (L)	100,80	111,17
Ácido butírico Microencapsulado (M)	76,00	76,00
Ácido butírico L+M	68,33	114,50
Controle positivo (CP)	143,83	113,17
EPM ¹	6,76	5,01
Contrastes ²	Probabilidade	Probabilidade
Efeito de aditivo	0,482	0,083
Butírico vs. CP	<0,001	0,272
Isolados vs. Mistura	0,127	0,094
L vs. M	0,123	0,022

¹EPM, erro padrão da média.

²Efeito de aditivo, ração controle negativo (sem aditivo) contra grupo de rações contendo aditivos; Butírico vs. CP, grupo de rações contendo ácido butírico contra controle positivo (antibiótico+anticoccidiano); Isolados vs. Mistura, grupo de rações com ácido butírico livre ou ácido butírico microencapsulado contra a mistura de ácido butírico livre + microencapsulado; L vs. M, ácido butírico livre contra ácido butírico microencapsulado.

5.4 Contagem de oocistos e Escores de lesão do epitélio intestinal

O número de oocistos excretados por grama de fezes (OOPG) não mostrou diferença significativa entre os aditivos (Tabela 10), porém houve diferença ($P < 0,001$) entre períodos de coleta, além de interação entre aditivos e períodos ($P = 0,022$).

Tabela 10. Contagem de oocistos por grama de fezes aos 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação e escores de lesão no intestino dos frangos de corte, aos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 e 19 dias após a inoculação com *Eimeria spp.*

Efeito		OOPG ¹	Escore de lesão		
			<i>Eimeria acervulina</i>	<i>Eimeria maxima</i>	<i>Eimeria tenella</i>
Tratamento	Controle negativo (CN)	9,55	0,90	0,56	0,65
	Ácido Butírico Livre (L)	9,72	1,25	0,40	0,58
	Ácido Butírico Microencapsulado (M)	9,55	1,00	0,35	0,63
	Ácido Butírico L+M	9,66	0,88	0,52	0,48
	Controle positivo (CP)	9,60	1,04	0,48	0,40
Períodos	4 dias	5,46			
	5 dias	11,23	1,23 ab	0,47 ab	1,50 a
	6 dias	10,76	1,40 a	0,27 b	0,77 abc
	7 dias	11,00	0,83 b	0,43 ab	0,77 ab
	8 dias		1,00 ab	0,60 ab	0,40 bcd
	9 dias		1,07 ab	0,73 a	0,30 bcd
	10 dias		0,90 ab	0,50 ab	0,27 cd
	12 dias		0,70 b	0,37 ab	0,10 d
	19 dias		0,97 ab	0,33 ab	0,27 c
	EPM ²	0,242	0,044	0,038	0,061
Fonte de variação			Probabilidade		
Aditivos		0,977	0,134	0,379	0,589
Períodos		< 0,001	0,005	0,047	<0,001
AditivosxPeríodos		0,022	0,721	0,310	0,826

¹OOPG, oocistos por grama de fezes. Os dados passaram por transformação logarítmica.

²EPM, erro padrão da média.

Letras distintas nas colunas indicam diferença pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Ao analisar cada tratamento separadamente no desdobramento da interação (Tabela 11), todos se mostraram com resultados significativamente menores na excreção de números de oocistos ao quarto dia após a inoculação, se comparado aos demais períodos. Já, aos cinco, seis e sete dias após a inoculação, o único tratamento que diferiu dos demais foi o do ácido butírico microencapsulado, mostrando aumento na quantidade de oocistos excretados ao sétimo dia após a inoculação.

Tabela 11. Desdobramento da interação dos aditivos com o período sobre o número de oocistos de *Eimerias* spp. Por grama de fezes (OOPG) aos 4, 5, 6, e 7 dias após a inoculação das aves.

Períodos	CN	Ácido Butírico			CP
		Livre (L)	Microencapsulado (M)	L+M	
4 dias	6,07 b A	6,20 b A	5,41 c AB	5,22 b AB	4,41 b B
5 dias	10,78 a A	11,18 a A	10,81 ab A	11,51 a A	11,89 a A
6 dias	11,11 a A	10,27 a A	10,34 b A	10,70 a A	11,38 a A
7 dias	10,24 a B	11,22 a AB	11,62 a A	11,21 a AB	10,73 a AB

Os dados passaram por transformação logarítmica.

Letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas indicam diferença pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A comparação entre tratamentos dentro de cada período mostrou que quatro dias após a inoculação, os grupos do controle positivo foram os que excretaram menos oocistos, assim como os que receberam ácido butírico microencapsulado e os ácidos associados, mostrando que estes aditivos controlaram a proliferação inicial dos protozoários, embora estes dois últimos não diferiram estatisticamente do grupo controle negativo e dos que receberam ácido butírico livre.

Cinco e seis dias após a inoculação não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. No 7º dia após a inoculação, a contagem de oocistos foi significativamente maior no grupo que recebeu o ácido microencapsulado, se assemelhando estatisticamente aos demais grupos e diferindo apenas do grupo controle negativo.

Na leitura de escore de lesão (Tabela 10), observa-se que o grupo dos aditivos não mostrou diferenças em relação ao grupo controle negativo. Também não houve interação entre aditivos e períodos. Houve diferença ($P < 0,05$) somente entre os períodos analisados na detecção de cada uma das eimérias inoculadas.

As lesões causadas pelos oocistos de *E. acervulina* e *E. 58áxima* não mostraram um padrão, apresentando maiores escores nos primeiros dias e alternando entre menores e maiores escores ao longo do tempo, diferentemente da leitura de escore para *E. tenella*, na qual nos primeiros dias após a inoculação (cinco, seis e sete dias) as lesões foram mais acentuadas e com o passar dos dias os escores foram diminuindo, indicando recuperação da mucosa.

5.5 Turnover da mucosa intestinal

Na Figura 10 estão apresentados os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal das aves de 1 a 21 dias de idade, as quais receberam dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_3 (arroz).

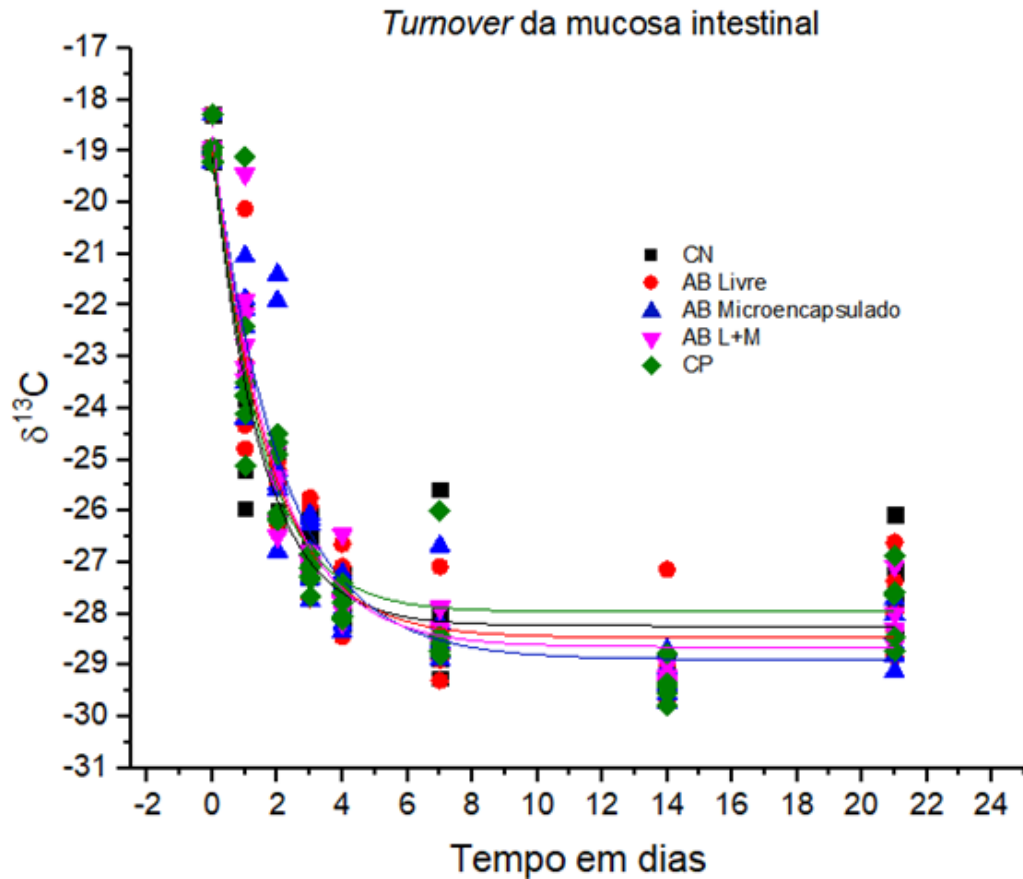


Figura 10. Taxa de *turnover* da mucosa intestinal na fase de 1 a 21 dias de idade.

Fonte: Elaborada pela autora.

As análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa resultaram nas seguintes equações e valores de meia vida do carbono (T) para as aves dos tratamentos controle negativo (CN), ácido butírico livre (L), ácido butírico microencapsulado (M), ácido butírico L+M e controle positivo (CP), respectivamente:

$$\text{CN: } \delta^{13}\text{C} = -28,24\text{‰} + [9,17] e^{-0,66380t} \quad (R^2 = 0,92) \quad \text{com T de 1,04 dias ou 24,96 horas;}$$

$$\text{L: } \delta^{13}\text{C} = -28,46\text{‰} + [9,51] e^{-0,57131t} \quad (R^2 = 0,93) \quad \text{com T de 1,21 dias ou 29,04 horas;}$$

M: $\delta^{13}\text{C} = -28,89\text{‰} + [10,07] e^{-0,46802t}$ ($R^2 = 0,92$) com T de 1,48 dias ou 35,52 horas;

L+M: $\delta^{13}\text{C} = -28,65\text{‰} + [9,95] e^{-0,54488t}$ ($R^2 = 0,95$) com T de 1,27 dias ou 30,48 horas;

CP: $\delta^{13}\text{C} = -28,64\text{‰} + [9,77] e^{-0,57786t}$ ($R^2 = 0,92$) com T de 1,20 dias ou 28,80 horas.

Na Figura 11 são apresentados os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa intestinal das aves dos 21 aos 42 dias de idade, quando passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C_4 (milho).

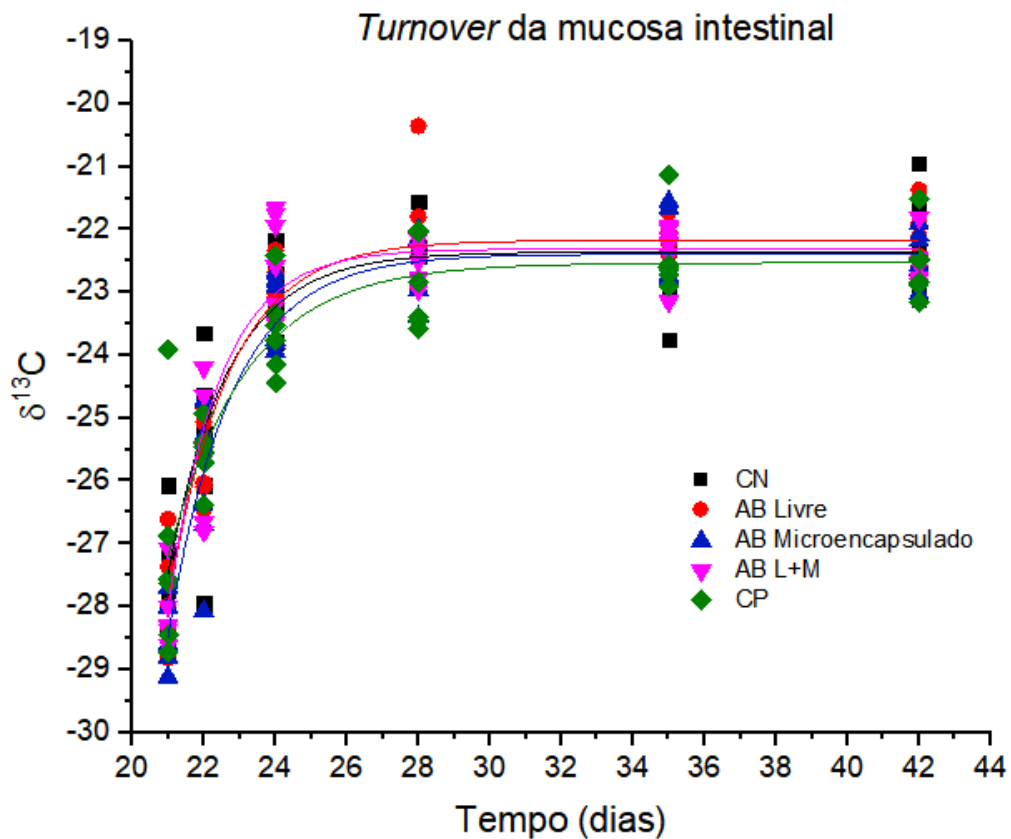


Figura 11. Taxa de turnover da mucosa intestinal na fase de 22 a 42 dias de idade.
 Fonte: Elaborada pela autora.

As análises dos resultados de $\delta^{13}\text{C}$ da mucosa resultaram nas seguintes equações e valores de meia vida do carbono (T) para as aves dos controle negativo (CN), ácido butírico

livre (L), ácido butírico microencapsulado (M), ácido butírico L+M e controle positivo (CP), respectivamente:

CN: $\delta^{13}\text{C} = -22,36\text{‰} - [5,13] e^{-0,59224t}$ ($R^2 = 0,85$) com T de 1,17 dias ou 28,08 horas;

L: $\delta^{13}\text{C} = -22,17\text{‰} - [5,79] e^{-0,59205t}$ ($R^2 = 0,92$) com T de 1,17 dias ou 28,08 horas;

M: $\delta^{13}\text{C} = -22,39\text{‰} - [6,09] e^{-0,56518t}$ ($R^2 = 0,92$) com T de 1,23 dias ou 29,52 horas;

L+M: $\delta^{13}\text{C} = -22,31\text{‰} - [5,73] e^{-0,69930t}$ ($R^2 = 0,91$) com T de 0,99 dias ou 23,76 horas;

CP: $\delta^{13}\text{C} = -22,53\text{‰} - [4,68] e^{-0,45660t}$ ($R^2 = 0,81$) com T de 1,52 dias ou 36,48 horas.

6 DISCUSSÃO

A manutenção do trato gastrintestinal é vital para a produtividade animal. A integridade das células que formam a mucosa intestinal é essencial para a absorção dos nutrientes, pois os processos de absorção dependem dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal (MACARI; FURLAN, 2005). O ácido butírico é uma fonte de energia prontamente disponível para as células epiteliais do intestino e estimula sua multiplicação e diferenciação (DALMASSO *et al.*, 2008), o que conseqüentemente melhora a eficiência alimentar (ADIL *et al.*, 2010).

Neste estudo foi observado efeito dos ácidos fornecidos de forma isolada no GP e CR das aves nas fases de 1 a 14 e 1 a 21, ao comparar com o fornecimento dos ácidos na forma associada. Era esperado que a combinação dos ácidos livre e microencapsulado proporcionasse maior efeito antimicrobiano, uma vez que o ácido orgânico protegido possui maior atuação na porção posterior do trato digestório e o ácido orgânico livre, na porção anterior, possibilitando ação acidificante em todo o trato digestório o que poderia melhorar aspectos de desempenho zootécnico (POLYCARPO *et al.*, 2017), porém este efeito não foi encontrado no presente estudo, mostrando menor GP e CR as aves que receberam os ácidos associados, do que na forma isolada.

Ao analisar os resultados de desempenho do ácido microencapsulado na fase inicial (1 a 21 dias), poucas diferenças ($P < 0,05$) foram encontradas ao comparar com o ácido na forma livre. Porém, há um indicativo de que na fase inicial o ácido microencapsulado é superior ao controle negativo, mostrando melhor CA aos 14 e 21 dias e melhor GP aos 14 dias.

Observou-se aos 42 dias que o desafio imposto foi eficaz, porém provocou queda no desempenho das aves que foram suplementadas com o ácido butírico, mostrando que este não trouxe um bom efeito antimicrobiano. Hammond e Long (1973) e Ruff (1999), observaram que aves infectadas com *Eimeria spp.* demonstraram retardo no crescimento e consequente redução de 10 a 18% no ganho de peso.

Sugere-se mais estudos que considerem a interação de fatores intervenientes com o efeito do ácido butírico na nutrição de frangos de corte, ao pH do trato digestório, à capacidade tampão dos ingredientes da dieta, à condição higiênica do ambiente produtivo, à heterogeneidade da microbiota intestinal e à resistência inerente aos microrganismos (PENZ; SILVA; RODRIGUES, 1993).

A ação benéfica dos ácidos graxos de cadeia curta no metabolismo digestivo das aves ainda não foi completamente elucidada (VIEIRA; KESSLER; RIBEIRO, 2009). Diante disso, seria interessante que mais trabalhos fossem conduzidos para gerar dados adicionais a respeito do assunto, que serviriam de base para um trabalho de revisão que pudesse organizar essas informações de forma quantitativa.

Aos 21 dias de idade, cinco dias após inoculação com oocistos de *Eimeria spp.*, o intestino das aves, em todos os tratamentos, tiveram encurtamento das vilosidades na região do duodeno. Observou-se que as vilosidades intestinais do duodeno das aves, nesta idade, apresentaram altura bem inferior às vilosidades do duodeno das aves aos 14 dias de idade, assim como diminuição de células caliciformes por vilosidade, comprovando as lesões causadas pelos oocistos. Entretanto, o grupo dos aditivos proporcionou melhorias na altura das vilosidades em relação ao grupo controle negativo, mostrando que os aditivos, ácido butírico ou antibiótico, ajudaram na recuperação da integridade da mucosa intestinal após desafio, proporcionando maior capacidade de digestão dos nutrientes.

Apesar da diminuição de células caliciformes por vilosidade no duodeno aos 21 dias, o tratamento controle positivo manteve um alto número de caliciformes, semelhantes aos encontrados aos 14 dias. Durante a análise morfométrica, foi possível observar que o controle positivo foi o que expressou nas aves menor destruição nas vilosidades pelas eimérias, mantendo maior altura de vilosidades em comparação aos grupos que receberam os ácidos butíricos. Estes, tiveram suas vilosidades danificadas pelos oocistos das eimérias, e consequentemente, apresentaram o encurtamento das mesmas, mostrando menor número de células caliciformes por vilosidade. A quantidade de células que compõem os vilosidades influencia o seu tamanho. Assim, quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilosidade, e pôr consequência, maior a área de absorção de nutrientes (BOARO, 2009).

Observando o jejuno aos 14 dias, é possível notar a influência dos ácidos butíricos no grupo de aves que receberam os ácidos associados. Estes apresentaram maior número de células caliciformes por vilão do que os grupos que receberam os ácidos separadamente. E também foi notada maior quantidade de células no jejuno no grupo que recebeu o ácido na forma livre comparado com a forma microencapsulada, tanto aos 14 quanto aos 21 dias. Porém, na análise morfométrica, a altura de vilosidades desses grupos não diferiram ($P > 0,05$), mostrando que a associação dos ácidos beneficiou a mucosa do jejuno ao aumentar o número de células por vilão. Aos 21 dias também não houve diferença ao analisar-se a altura das vilosidades dos tratamentos suplementados com ácido na forma livre e microencapsulada, porém, o ácido na forma livre proporcionou às aves mais células por vilão.

Apesar de não haver diferenças significativas para a morfometria do jejuno entre os grupos estudados aos 21 dias de idade, é visível o aumento na altura, largura da base e do ápice das vilosidades e maior profundidade de criptas ao serem comparadas com os valores encontrados aos 14 dias. É possível que este fato possa estar associado a dois fatores: a proliferação celular induzida pelos aditivos, inclusive pelos ácidos butíricos que também têm efeito na maturação e diferenciação das células da mucosa (SENGUPTA; MUIR; GIBSON, 2006), e devido ao período pré-patente da *E. maxima*, espécie que parasita o jejuno. Pré-patência é o período entre a infecção e o aparecimento do seu estágio detectável (BOWMAN *et al.*, 2006), período este de aproximadamente cinco dias (120 a 126 horas) para a espécie *E. maxima* (KAWAZOE *et al.*, 2009). Supõe-se que até o momento da coleta para a análise morfométrica, realizada cinco dias após a inoculação, os protozoários ainda estavam em seu período pré-patente, não causando lesões severas na mucosa.

Neste estudo foram encontrados melhores resultados nas variáveis morfométricas do intestino delgado após desafio para os grupos suplementados com ácido butírico quando comparados ao tratamento controle negativo. Resultados semelhantes foram encontrados por Timbermont *et al.* (2010); Jerzsele *et al.* (2012); Vieira *et al.* (2012), que mostraram que a suplementação de butirato de sódio e ácido butírico microencapsulado (SONG *et al.* 2017) protegeu o intestino de lesões induzidas por patógenos, reduzindo os escores de lesão intestinal e melhorando a morfologia intestinal. Ao testar a inclusão de 3% de ácido butírico nas dietas de frangos de corte, Adil *et al.* (2010) encontraram maior altura de vilosidades no duodeno e jejuno ao comparar com o tratamento controle negativo.

Em teoria, o microencapsulamento do ácido butírico com matriz lipídica é estratégico porque evita que o ácido seja totalmente dissociado na parte superior do TGI, preservando a molécula até o início do intestino delgado, onde ocorre a digestão dos lipídios. Com o início

da digestão dos lipídios, a matriz lipídica é rompida e o ácido butírico é liberado no intestino, que é a porção do TGI onde ocorre a maior parte da absorção final dos nutrientes. Porém, os efeitos benéficos desta técnica não foram encontrados nos resultados para desempenho e morfometria, no qual não se diferiram dos resultados achados com a forma livre do ácido.

Ao avaliar o número de oocistos excretados pelas aves após a inoculação, observou-se que todos os tratamentos tiveram menor número de oocistos ao quarto dia após a inoculação, se comparado aos demais períodos, o que pode ter ocorrido devido aos períodos pré-patentes dos protozoários, como já citado anteriormente, havendo pouca multiplicação no organismo das aves, sendo pouco eliminado nas excretas. Supõe-se que a maior excreção de oocistos ao 7º dia pós-inoculação, pelas aves que receberam ácido microencapsulado, pode ser devido ao fato do ácido não conseguir combater os patógenos e também a uma provável reinfestação dos mesmos.

Um dos efeitos mais graves em infecções moderadas de coccidiose, caso encontrado neste estudo, é a diminuição no ganho de peso. Quando analisado o atraso no desempenho das aves suplementadas com os ácidos aos 21 dias de idade é possível associa-las às lesões provocadas pelas *Eimerias*, evidenciando que os aditivos alternativos estudados não conseguiram controlar a infecção, tendo as vilosidades danificadas e conseqüentemente, um prejuízo na absorção dos nutrientes. A patogênese da coccidiose varia de acordo com as características das cepas ou de fatores ambientais externos ou internos ao hospedeiro, como por exemplo características genéticas e estado imune do hospedeiro. Esses fatores podem influenciar na severidade da infecção (KAWAZOE *et al.*, 2009). Neste estudo todas as aves foram submetidas às mesmas condições ambientais e de inoculação.

O efeito antimicrobiano dos ácidos orgânicos provém principalmente do seu poder de acidificação. É esperado que o ácido butírico seja mais eficiente no controle de patógenos mais sensíveis à redução de pH, como é o caso da *Salmonella* (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2004; 2005; FERNANDEZ-RUBIO *et al.*, 2009; CERISUELO *et al.*, 2014). Apesar disso, também é documentado o potencial do ácido butírico contra *Eimeria* spp. e *Clostridium perfringens* sobre o desempenho de frangos (SONG *et al.*, 2017), contrariando os achados nesta pesquisa. Assim como no desempenho, também era esperado que o intestino se beneficiasse dos efeitos da combinação dos ácidos. Esperava-se que estes proporcionassem maior efeito antimicrobiano, possibilitando ação acidificante em todo o trato digestório, e com isso diminuísse a carga parasitária, o que não foi observado no presente estudo.

Ao avaliarmos a taxa de *turnover* da mucosa intestinal no período de 1 a 21 dias de idade das aves que receberam dietas contendo ácido butírico livre (T= 29,04 horas), ácido butírico microencapsulado (T= 35,52 horas), ácidos associados (T= 30,48 horas) e controle positivo (T= 28,80 horas), nota-se que foram maiores quando comparadas com as aves do tratamento controle negativo (T= 24,96 horas) indicando que a suplementação com os ácidos e também com o antibiótico e anticoccidiano controlou os microrganismos. Assim, possuindo menos patógenos, houve menor necessidade de renovação celular e conseqüentemente, mais energia sobrou para manutenção e ganho de peso das aves.

O fato do tratamento controle negativo ter meia vida menor (T= 24,96 horas) que o restante dos tratamentos pode ser em função da infecção por coccidiose. Considerando que as aves deste tratamento não possuíam nenhum aditivo antimicrobiano para combater o patógeno, acredita-se que houvesse mais microrganismos no intestino os quais causaram injúrias no mesmo. Assim, houve aumento na proliferação e renovação celular como um mecanismo de defesa do organismo, na tentativa de reparar os danos que foram observados nas vilosidades aos 21 dias, conseqüentemente, acelerando a troca tecidual.

Assim, são duas vias que vão atuar para aumentar essa renovação celular: uma para curar o intestino daquelas injúrias e outra, como mecanismo de defesa para tentar eliminar ou proteger o intestino daqueles patógenos que estão ali, e assim gasta-se muito mais energia.

No período de 21 a 42 dias de idade, o tratamento com a associação dos ácidos butíricos obteve menor tempo de meia-vida (T= 23,76 horas) em comparação aos outros tratamentos, indicando que as aves deste grupo apresentaram maiores danos na mucosa, necessitando de renovação celular constante e rápida. À medida que é destruído um grande número de células nas vilosidades intestinais, ocorre tentativas de reparo e reconstituição da mucosa através do processo de proliferação celular na região das criptas (MAIORKA; BOLELI; MACARI, 2008), acelerando a troca tecidual, o que gera maior gasto de energia.

A associação dos ácidos butíricos teve efeito trófico sobre o tecido da mucosa capaz de acelerar a troca tecidual. Porém, a combinação dos ácidos não combateu os patógenos, proporcionando as aves deste tratamento complicações, além das lesões encontradas. Durante este período houve o surgimento de prolapsos intestinais, uma das causas para o seu surgimento são as doenças causadas por protozoários, que modificam drasticamente a parede intestinal, podendo acarretar o problema, reforçando a hipótese acima de que a mucosa intestinal estava gravemente danificada, e conseqüentemente, houve maior renovação celular, maior gasto de energia, explicando o baixo desempenho neste tratamento. É sabido que o ácido butírico é uma fonte de energia prontamente disponível

para as células do epitélio intestinal e estimula sua multiplicação e diferenciação (JÓZEFIAK; RUTKOWSKI; MARTIN, 2004; ADIL *et al.*, 2010). A rápida renovação celular, ao combinar os dois tipos de ácidos, pode ter potencializado a energia disponível para as células se renovarem.

O maior tempo para acontecer a renovação celular foi encontrada no tratamento controle positivo (T= 36,48 horas) sugerindo que este aditivo foi capaz de controlar a infecção, diminuindo a destruição celular da mucosa, sendo desnecessária uma rápida renovação celular.

Os tratamentos com os ácidos isolados tiveram meias-vidas parecidas com a do tratamento controle negativo (média de 28,56 horas), apresentando troca mais lenta, o que é bom por gastar menos energia, evidenciando que há necessidade de pouca renovação celular com o uso dos ácidos.

Pelícia *et al.* (2011, 2015), ao estudarem a renovação celular da mucosa intestinal de frangos de corte verificaram que a suplementação com nucleotídeos, ácido glutâmico/glutamina e aditivos fitogênicos propiciaram a aceleração na velocidade de troca do carbono na fase inicial e de crescimento, representando menor taxa de *turnover* deste tecido e, portanto, maior aceleração no crescimento intestinal, assemelhando-se aos achados da presente pesquisa quando usado o ácido na forma associada, livre + microencapsulada.

A área de avicultura carece de pesquisas utilizando a forma microencapsulada do ácido que começou a ser estudada há pouco tempo como possível aditivo alternativo aos antibióticos. Neste estudo, o uso associado de ácido butírico livre e microencapsulado mostrou ter potencial para acelerar a renovação celular diante das injúrias causadas na mucosa do intestino. A ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos e seu efeito trófico nas células da mucosa, mostram ser relevantes para a mucosa intestinal, favorecendo o número de células caliciformes no vilo. Este mecanismo é importante para manter a estrutura dos vilos, para garantir maior capacidade de digestão e absorção de nutrientes, e conseqüentemente, resultando em melhor desempenho dos animais.

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa sugere-se mais estudos para elucidar os efeitos do ácido butírico microencapsulado em doses mais elevadas, principalmente sobre a taxa de *turnover* da mucosa intestinal, para além de beneficiar a taxa de renovação celular da mucosa intestinal, possivelmente beneficiar o desempenho das aves.

7 CONCLUSÃO

Evidencia-se neste estudo que a suplementação com ácido butírico na forma isolada (livre ou microencapsulada) mostra melhor desempenho até 21 dias de idade que seu uso combinado. Porém, ao analisar o período total de criação os efeitos da microencapsulação não são observados sobre o desempenho e a integridade intestinal dos frangos, ficando aquém dos efeitos dos antibióticos.

A associação de ácido butírico livre e microencapsulado acelera a proliferação celular, renovando a mucosa intestinal após os danos causados pela coccidiose em sua estrutura, mostrando que o ácido butírico é importante para a manutenção e função da mucosa intestinal.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIL, S.; BANDAY, T.; BHAT, G. A.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. **Veterinary Medicine International** v. 2010, p.1-7, 2010.

BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Facta: Campinas, 2009. p. 262-274.

BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERHARD, M. L.; ALCARAZ, A. **Parasitologia veterinária de Georgis**. 8. ed. Barueri: Manole, 2006. 422 p.

CERISUELO, A.; MARÍN, C.; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, F.; GÓMEZ, E. A.; DE LA FUENTE, J. M.; DURÁN, R.; FERNÁNDEZ, C. 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**, v. 93, n. 3, p.599-606, 2014.

DALMASSO, G.; NGUYEN, H. T. T.; YAN, Y.; CHARRIER-HISAMUDDIN, L.; SITARAMAN, S. V.; MERLIN, D. Butyrate transcriptionally enhances peptide transporter PepT1 expression and activity. **Plos One** v. 3, p. 2476–2489, 2008.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: UNESP, 2005. 203 p,

DUCATTI, C.; CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; MANCERA, P. F. D. A. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono-13 em tecidos de mamíferos e aves. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

FERNANDEZ-RUBIO, C.; ORDÓÑEZ, C.; ABAD-GONZÁLEZ, J.; GARCIA-GALLEGO, A.; PILAR HONRUBIA, M.; JOSE MALLO, J.; BALAÑA-FOUCE, R. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from *Salmonella* enteritidis infection. **Poultry Science**, v. 88, n. 5, p. 943-948, 2009.

GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, n. 12, p. 50-52, 1939.

HAMMOND, H.; LONG, P. **The coccidian: Eimeria, isospora toxoplasma and related genera**. Baltimore: Park Press University, 1973. 482 p.

HODGSON, J. N. Coccidiosis: oocyst-counting technique for coccidiostat evaluation. **Experimental Parasitology**, v. 28, p. 99-102, 1970.

HOLDSWORTH, P. A.; CONWAY, D. P.; MCKENZIE, M. E.; DAYTON, A. D.; CHAPMAN, H. D.; MATHIS, G. F.; SKINNER, J. T.; MUNDT, H. C.; WILLIAMS, R. B. Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. **Veterinary Parasitology**, v. 121, n. 1, p. 189-212, 2004.

JERZSELE, A.; SZEKER, K.; CSIZINSZKY, R.; GERE, E.; JAKAB, C.; MALLO, J. J.; GALFI, P. Efficacy of protected sodium butyrate, a protected blend of essential oils, their combination, and *Bacillus amylolique faciens* spore suspension against artificially induced necrotic enteritis in broilers. **Poultry Science**, v. 91, n. 4, p. 837-843, 2012.

JOHNSON, J.; REID, W. M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, v. 28. p. 30-36, 1970.

JÓZEFIAK, D.; RUTKOWSKI, A.; MARTIN, S. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 113, p. 1-15, 2004.

KAWAZOE, U. Coccidiose. *In*: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: Facta, 2009. Cap. 7. p. 837-855.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Campinas: Facta, 2005. p. 53-71.

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. *In*: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep. 2008. p. 113-120.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; DE LIMA, T. M. A. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 3, p. 207-214, 2003.

PELÍCIA, V. C.; DUCATTI, C.; ARAUJO, P. C.; STRADIOTTI, A. C.; AOYAGI, M. M.; FERNANDES, B. S.; SILVA, E. T.; SARTORI, J. R. Ação trófica de aditivos fitogênicos, glutamina e ácido glutâmico sobre a Bursa de Fabrícus e intestino delgado de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 691-699, 2015.

PELÍCIA, V. C.; ZAVARIZEI, K. C.; DUCATTI, C.; STRADIOTTI, A. C.; PEZZATOI, A. C.; ARAUJO, P. C.; MITUOI, M. A. O.; MADEIRAI, L. A.; SARTORI, J. R. Nucleotídeos na dieta

de frangos de corte e seus efeitos sobre taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose. **Ciência Rural**, v. 41, n. 9, 2011.

PENZ, A. M.; SILVA, A. B.; RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais...**São Paulo. Brasil: FACTA 1993. p.111-119.

POLYCARPO, G. V.; ANDRETTA, I.; KIPPER, M.; CRUZ-POLYCARPO, V. C.; DADALT, J. C.; RODRIGUES, P. H. M.; ALBUQUERQUE, R. Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, p. 3645-3653, 2017.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4.ed. Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV, 2017. 488p.

RUFF, M. D. Important parasites in poultry production systems. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 337-347, 1999.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® 9.3 User's Guide**. Cary: SAS Institute Inc., 2012.

SENGUPTA, S.; MUIR, J. G.; GIBSON, P. R. Does butyrate protect from colorectal cancer? **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 21, p. 209-218, 2006.

SONG, B.; LI H. X.; WU, Y. Y.; ZHEN, W. R.; WANG, Z.; XIA, Z. F.; GUO, Y. M. Effect of microencapsulated sodium butyrate dietary supplementation on growth performance and intestinal barrier function of broiler chickens infected with necrotic enteritis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 232, p. 6-15, 2017.

TIMBERMONT, L., LANCKRIET, A., DEWULF, J., NOLLET, N., SCHWARZER, K., HAESEBROUCK, F., DUCATELLE, R., VAN IMMERSEEL, F. Control of *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in broilers by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. **Avian Pathology**, v. 39, p. 117–121, 2010.

VAN IMMERSEEL, F.; BOYEN, F.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; BOHEZ, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Supplementation of coated butyric acid in the feed reduces colonization and shedding of *Salmonella* in poultry. **Poultry Science**, v. 84, n. 12, p. 1851-1856. 2005.

VAN IMMERSEEL, F.; FIEVEZ, V.; DE BUCK, J.; PASMANS, F.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* enteritidis in young chickens. **Poultry Science**, v. 83, n. 1, p. 69-74, 2004.

VIEIRA, E. L.; LEONEL, A. J.; SAD, A. P.; BELTRAO, N. R.; COSTA, T. F.; FERREIRA, T. M.; SANTOS, A. C. G.; FARIA, A. M.; PELUZIO, M. C.; CARA, D. C.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Oral administration of sodium butyrate attenuates inflammation and mucosal lesion in experimental acute ulcerative colitis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 430–436, 2012.

VIEIRA, M. M.; KESSLER, A. M.; RIBEIRO, A. M. L. Inclusão de ácidos graxos de cadeia curta em diferentes níveis de cálcio na dieta de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p.156-192, 2009.