

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃
(25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES E
QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE

CAROLINA BRESNE

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Maio – 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃
(25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES E
QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE

CAROLINA BRESNE

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Ariel Antonio Mendes

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Regina Fernandes Boaro Martins

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Maio – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B842s Bresne, Carolina, 1987-
Suplementação da vitamina D₃ (Colecalciferol) e 25-OHD₃ (25-Hidroxi-Colecalciferol) e problemas locomotores e qualidade óssea em frangos de corte / Carolina Bresne. - Botucatu : [s.n.], 2013
xi, 79 f. : fots. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013
Orientador: Ariel Antonio Mendes
Co-orientadora: Márcia Regina Fernandes Boaro Martins
Inclui bibliografia

1. Frango de corte. 2. Suplementos dietéticos. 3. Aves domésticas - Doenças. 4. Distúrbios da locomoção. 5. Fêmur. 6. Degeneração (Patologia). 7. Vitamina D. 8. *Gait score*. 9. *Cholecalciferol*. I. Mendes, Ariel Antonio. II. Martins, Márcia Regina Fernandes Boaro. III. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Ofereço

À Deus, que ilumina sempre o meu caminho, me protege, me guia e me levanta nos momentos de angústia, permitindo que eu atinja todos os meus objetivos.

Dedico

Aos meus pais Maria Aparecida Neves Bresne e Valdir Bresne, pelo incentivo, apoio e por me darem todas as condições necessárias para a minha educação;

Aos meus irmãos, Alexandre Bresne e Daniela Bresne pelo incentivo, carinho e amizade;

Ao namorado, companheiro e amigo, Daniel Cipolletta, que sempre me apoiou, me deu forças para continuar e nunca deixou que eu desistisse mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradecimento Especial

À Professora Dr^a. Márcia Regina Fernandes Boaro Martins, por todos os ensinamentos e amizade.

Ao Professor Dr. Ariel Antonio Mendes pelo apoio, orientação e ensinamentos.

Às amigas Barbara Cristina da Silva Fernandes, Édina de Fátima Aguiar, Cristiane Sanfelice, Bruna Boaro Martins, e aos amigos Giovanni da Silva Prado e Jônatas Garcia Neiro que formaram minha equipe. Muito obrigada pela ajuda, amizade, bons momentos, por me socorrerem e por estarem sempre ao meu lado.

Minha mais sincera gratidão.

Agradeco

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do Auxílio Financeiro.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida durante o curso de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade.

A todos os Professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, pelos ensinamentos e apoio durante todo o período do mestrado.

Aos Professores Antonio Celso Pezzato, Margarida Maria Barros e Maria Márcia Pereira Sartori. Muito obrigada pela disposição em ajudar, aconselhar e ensinar.

À Professora Ibiara Correia de Lima Almeida Paz e ao Professor José Roberto Sartori obrigada pela ajuda, esclarecimentos e por fazer parte da banca avaliadora da defesa do mestrado.

Aos secretários da Pós-Graduação em Zootecnia, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Carlos Pazini Junior, pelo apoio.

À Empresa DSM Produtos Nutricionais do Brasil pelo fornecimento das vitaminas (D₃ e 25-OHD₃), ao Dr. Isaac Bittar e Rafael Hermes pelos esclarecimentos com relação às suplementações.

As Empresas Mcassab pela doação dos suplementos vitamínico e mineral e Zanchetta pela grande colaboração no fornecimento das aves.

Aos funcionários da FMVZ-UNESP/Botucatu, em especial ao Dair, pela grande ajuda antes, durante e após a condução do experimento, pelas boas conversas e amizade.

Aos funcionários da Fábrica de Ração Paulo Sérgio dos Santos, Carlos Eduardo Godoy e André Michel de Castilhos pela ajuda e atenção durante a confecção das rações, pelos bons momentos e amizade.

Aos Professores Pedro Magalhães Padilha, Luiz Carlos Vulcano e Eivaldo Antonio Garcia pela ajuda com as análises, dedicação e paciência.

À amiga e irmã Maria Caroline da Silva Franzói, por me incentivar, me animar e suportar diante das dificuldades que surgiram durante todos esses anos de convivência.

À técnica do Laboratório de Bromatologia Gisele Setznagl, ao técnico do Laboratório de Tomografia Heraldo André e ao técnico do Laboratório de Anatomia Gelson Rodrigues pela ajuda com as análises e colaboração.

Aos Pós-Graduandos José Cavalcante, Vitor Barbosa Fascina, Ivan Mailinch Gonçalves Pereira de Souza, Thaila Cristina Putarov e Zara Bortolini, por toda ajuda e apoio.

Aos alunos de Graduação em Zootecnia João Victor Feliciano Pereira, Alexandre Cominotte, Bruna Ewely da Silva Petinati e Daniele Martins Rodrigues pela ajuda durante o abate e análises posteriores.

À toda minha família por me dar exemplos de honestidade, pelo incentivo e pela alegria que a suas presenças me proporcionam.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!!

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. Introdução Geral.....	2
2. Revisão de Literatura	3
2.1 Problemas locomotores em frangos de corte.....	3
2.1.1 Degeneração femoral.....	5
2.1.2 Discondroplasia tibial.....	5
2.1.3 Desvios de articulações (<i>valgus</i> e <i>varus</i>) e <i>gait score</i>	6
2.2 Pododermatite ou calo de pata.....	7
2.3 Vitamina D	8
2.3.1 Metabolismo e funções da vitamina D nas aves.....	8
2.3.2 Vitamina 25-OHD ₃	10
2.3.3 Uso de vitamina D ₃ e 25-OHD ₃ em anormalidades ósseas.....	11
2.3.4 Efeitos da vitamina D ₃ e 25-OHD ₃ sobre o desempenho de frangos de corte	13
2.3.5 Recomendações e necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte	13
3. Referências Bibliográficas	15
 CAPÍTULO 2. PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D ₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD ₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)	21
Resumo.....	22
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos	26
1. Tratamentos e Delineamento Experimental.....	27
2. Pododermatite: avaliação de lesões de coxim plantar – macroscopia e histopatologia.....	29
3. Desempenho das aves.....	29
4. Análise Estatística	30
Resultados e Discussão.....	30

1. Pododermatite: avaliação de lesões de coxim plantar – macroscopia e histopatologia.....	30
1.1 Avaliação macroscópica de lesões de coxim plantar.....	30
1.2 Avaliação histopatológica de lesões de coxim plantar.....	32
2. Desempenho.....	35
Conclusão.....	37
Referências Bibliográficas.....	37
CAPÍTULO 3. SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D ₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD ₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE.....	40
Resumo.....	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	45
1. Avaliação de problemas locomotores.....	45
1.1 Análise macroscópica e histológica da cabeça do fêmur – degeneração femoral.....	45
1.2 Análise macroscópica da tíbia – discondroplasia tibial.....	46
1.3 Avaliação da locomoção – gait score.....	47
1.4 Avaliação de deformidades valgus e varus.....	47
2. Análise Estatística.....	47
Resultados e Discussão.....	47
1. Análise macroscópica e histológica da cabeça do fêmur – degeneração femoral.....	48
1.1 Análise macroscópica da cabeça do fêmur – degeneração femoral.....	48
1.2 Análise histológica da cabeça do fêmur – degeneração femoral.....	49
2. Análise macroscópica da tíbia – discondroplasia tibial.....	57
3. Avaliação da locomoção – <i>gait score</i>	57
4. Avaliação de deformidades <i>valgus e varus</i>	58
Conclusão.....	60
Referências Bibliográficas.....	60
CAPÍTULO 4. QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D ₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD ₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL).....	63
Resumo.....	64
Abstract.....	65

Introdução.....	66
Material e Métodos	68
1. Características Ósseas	68
1.1 Densidade mineral óssea	68
1.2 Índice Seedor.....	69
1.3 Resistência óssea	70
1.4 Matéria seca desengordurada	70
1.5 Cinzas e teores de cálcio e fósforo	71
2. Análise Estatística	71
Resultados e Discussão.....	72
Parâmetros de Tecido Ósseo	72
Conclusão.....	74
Referências Bibliográficas	74
CAPÍTULO 5. IMPLICAÇÕES.....	78

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2. PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)

Página

Tabela 1. Níveis e fontes de suplementação de vitamina D para frangos de corte em diferentes fases de criação.....	27
Tabela 2. Composições centesimais e nutricionais calculadas das rações experimentais.	28
Tabela 3. Incidência de pododermatite em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D ₃ e a combinação entre vitamina D ₃ e 25-OHD ₃	31
Tabela 4. Ganho de peso médio (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade (VB) e índice de eficiência produtiva (IEP) de frangos de corte nos intervalos de criação 1-7, 1-21, 1-35 e 1-42 dias de idade sob os diferentes tratamentos.....	36

CAPÍTULO 3. SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE

Página

Tabela 1. Incidência de degeneração femoral em frangos de corte aos 42 dias de idade.....	49
Tabela 2. <i>Gait score</i> encontrados para frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com vitamina D ₃ e a sua associação com 25-OHD ₃).....	57
Tabela 3. Deformidade <i>valgus</i> , com diferentes angulações, encontrados em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D ₃ e a associação entre as duas fontes (D ₃ + 25-OHD ₃).....	58
Tabela 4. Deformidade <i>varus</i> , com diferentes angulações, encontrados em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D ₃ e a associação entre as duas fontes (D ₃ + 25-OHD ₃).....	59

CAPÍTULO 4. QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)

Página

Tabela 1. Valores médios de Índice Seedor, matéria seca desengordurada, resistência óssea, densidade mineral óssea, cinzas, cálcio e fósforo.....	72
Tabela 2. Correlações entre as características ósseas.....	74

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2. PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)

Página

- Figura 1.** Fotografia dos escores macroscópicos do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa).....31
- Figura 2.** Fotomicrografia do coxim plantar sem lesão de frangos de corte aos 42 dias de idade. epiderme (E), derme (D), camada germinativa (CG), camada espinhosa (CE), camada granulosa (CGr), camada lúcida (CL), camada córnea (CC), vaso sanguíneo (VS). HE, 40X.....32
- Figura 3.** Fotomicrografia do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa). epiderme (E), derme (D), camada córnea (CC). HE, 20X.....33
- Figura 4.** Fotomicrografia de Escore 3 (lesão severa) do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Células da derme invadindo a epiderme (*), epiderme (E), derme (D), borda da epiderme (B), camada córnea (CC). HE, 40X.....34
- Figura 5.** Fotomicrografia do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Nódulo linfático (NL). HE, 40X.....35

CAPÍTULO 3. SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE

Página

- Figura 1.** Fotografia dos escores macroscópicos da cabeça do fêmur de frango de corte aos 42 dias de idade. Em A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa).48

- Figura 2.** Correlação das zonas da lâmina histológica com a fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) Tratamento 1 (controle), cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X..... 50
- Figura 3.** Fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X..... 50
- Figura 4.** Fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T3) Vit D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X..... 51
- Figura 5.** Fotomicrografia do Escore 2 (lesão inicial) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X. 53
- Figura 6.** Fotomicrografia do Escore 2 (lesão inicial) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T3) Vit D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X. 53
- Figura 7.** Fotomicrografia do Escore 3 (lesão severa) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X..... 54
- Figura 8.** Fotomicrografia do Escore 3 (lesão severa) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T3) Vit D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X. 55
- Figura 9.** Fotografia da tíbia de frango de corte aos 42 dias de idade. 57

CAPÍTULO 4. QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)

Página

- Figura 1.** Fotografia da imagem óssea utilizada para o cálculo da densidade mineral óssea do fêmur, com 0,405 cm² de área de leitura no Programa ClearCanvas Workstation 2.0.....69
- Figura 2.** Fotografia da peça óssea no momento da execução da análise de resistência, com vão livre de 3cm.....70

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

A avicultura tem grande importância para a economia brasileira. Segundo a União Brasileira de Avicultura a produção da carne de frango em 2011 chegou a 13,058 milhões de toneladas em um crescimento de 6,8% em relação a 2010. Com este desempenho o Brasil se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2011 teria somado 13,2 milhões de toneladas, estando abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,757 milhões de toneladas conforme projeções do Departamento de Agricultura dos EUA. O crescimento de 2011 foi impulsionado principalmente pelo aumento de consumo de carne de frango e pela expansão de 3,2% nas exportações. Como resultado da produção em 2011, o consumo *per capita* de carne de frango, foi de 47,4 quilogramas por pessoa e os embarques somaram 3,942 milhões de toneladas em 2011, conferindo ao Brasil a continuidade de maior exportador de carne de frango. No caso da receita cambial, de US\$ 8,2 milhões, o incremento foi de 21,2% (UBABEF, 2012).

A alta produtividade da indústria avícola se deve, principalmente, às pesquisas que levaram à obtenção de aves com potencial genético de crescimento rápido aliado ao manejo, nutrição e sanidade quando comparado a outras espécies animais. Contudo, o desenvolvimento do tecido ósseo não tem acompanhado estes processos fisiológicos, sendo observado acentuado aumento no aparecimento de anormalidades ósseas em frangos de corte, ocasionando sérios prejuízos zootécnicos e na qualidade das carcaças (SULLIVAN, 1994). Segundo Tardin (1995), a dificuldade na contabilização dos prejuízos se prende também ao fato de muitos sintomas decorrentes das anormalidades ósseas não serem clinicamente visíveis.

Desta forma, fica evidente a necessidade de diversas pesquisas com o objetivo de obter a melhor forma de utilização de nutrientes pelos animais e a redução de anormalidades ósseas em frangos de corte de crescimento rápido. Segundo Cook (2000) foi gerada uma série de estudos, entre os quais se destacam artigos sobre o efeito da vitamina D, do cálcio, do fósforo, do cloro, do zinco, do manganês, do cobre, das

vitaminas A e C, da piridoxina, da colina, do ácido fólico, da niacina, da metionina, da cistina, da cisteína e da homocisteína a fim de reduzir os problemas de perna nas aves. Segundo Pizauro Jr. (2002), a vitamina D na sua forma ativa, está diretamente associada à absorção de cálcio e fósforo, podendo influenciar o aparecimento de anomalias ósseas.

Diante do exposto o objetivo com este estudo foi avaliar a suplementação da vitamina D₃ (colecalfiferol) e 25-hidroxi-colecalfiferol (25-OHD₃), a ocorrência de problemas locomotores, a qualidade óssea, a incidência de pododermatite e o desempenho de frangos de corte machos aos 42 dias de idade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE

O desencadeamento de doenças esqueléticas geralmente ocorre quando há aumento na taxa de crescimento de outros tecidos, principalmente o tecido muscular, sem que ocorra aumento proporcional à taxa de crescimento do tecido ósseo. Alguns autores como Rennie et al. (1997), Kestin et al. (1999) e Rath et al. (1999) descreveram que as práticas de manejo e seleção com ênfase em crescimento comprometem a maturação, o vigo, a qualidade dos ossos das aves e podem ser responsáveis por problemas como fadiga de gaiola, osteoporose, doenças degenerativas dos ossos e fraqueza das pernas em lotes de matrizes e frangos de corte. E segundo McCoy & Reilly (1996); Leeson & Summers (2000); Vargas Jr. et al. (2002), esses problemas podem resultar em baixo desempenho e alta mortalidade das aves.

Devido ao grande desenvolvimento de massa muscular em frangos de corte é notório o aparecimento de problemas de locomoção; contudo, a indústria avícola tem tentado diminuir a ocorrência de anormalidades nas pernas de aves de crescimento rápido. A alta frequência de deformidades ósseas, principalmente as anormalidades nas pernas, é um dos problemas mais graves que afetam e comprometem o bem-estar e o desempenho dos frangos de crescimento rápido (BÉLGICA, 2000; ALMEIDA PAZ et al., 2009). Isso ocorre devido à dificuldade do animal de se movimentar, com consequente redução do consumo de água e de alimentos, conduzindo a um impacto na saúde do animal e em sua eficiência produtiva. Deve-se salientar que, no caso das aves,

o melhoramento genético, a nutrição e o manejo as levaram ao rápido crescimento, e este geralmente afeta a composição mineral dos ossos e cartilagens, favorecendo o aparecimento de alterações locomotoras (GONZALES & MACARI, 2000).

Estima-se que as anormalidades ósseas causavam prejuízos de bilhões de dólares ao ano para a indústria avícola (MORRIS, 1993). De acordo com Mendonça Jr. (2000), há ocorrência de 3 a 6% de refugagem de pintos e descartes de aves na linha de abate por problemas de pernas, resultando em perda econômica significativa. A fragilidade das pernas dos frangos de corte, como denominada no meio industrial, foi identificada como consequência de alterações na placa de crescimento, raquitismo, discondroplasia, degeneração femoral, espondilolistese, desordens do desenvolvimento ósseo, dificuldades ao caminhar e defeitos de angulação do tipo *valgus* e *varus*. Entre todas as patogenias descritas, a discondroplasia e a degeneração femoral são as que mais acometeram as aves até o ano de 2005, atingindo até 80% dos problemas de perna nos lotes de frangos de corte comerciais (BAINS et al., 1998; MURAKAMI, 2000; ALMEIDA PAZ, 2008). Hoje a espondilolistese é a deformidade que mais acomete as aves. Em um estudo com frangos de corte Kestin et al. (1992) encontraram incidência de mais de 26% de frangos com graves anormalidades nos membros, incluindo alterações no andar. Embora as causas do desenvolvimento destas afecções sejam multifatoriais, o crescimento rápido e o aumento da massa muscular na região do peito, que sobrecarrega os ossos das pernas, são fatores importantes a serem considerados.

As deformidades angulares e torções nos ossos longos, como deformidades *valgus* e *varus*, parecem estar relacionados com o rápido crescimento e podem causar alterações ao andar (JULIAN, 1998 e FALCONE, 2007). Frangos de corte com deformações nos ossos podem se tornar gravemente debilitados e o músculo afetado pode atrofiar-se. Em um estudo Corr et al. (2003) demonstraram que o aumento da massa muscular na região do peito de frangos de corte de crescimento rápido causou mudança no centro de gravidade para frente, resultando em aves com padrão de andar diferente comparado as linhagens de crescimento lento. Outros autores mencionaram que este novo padrão no andar é bastante cansativo para as aves (FALCONE, 2007).

2.1.1 Degeneração femoral

A degeneração femoral segundo Kealy (1987) ocorre em animais jovens, não possui etiologia definida e pode manifestar-se de maneira uni ou bilateral, acarretando em alterações não só na região da cabeça, como também no colo do fêmur. Estas alterações podem ser diagnosticadas radiologicamente, apresentando-se como região de baixa densidade óssea e colapso no arranjo do osso trabecular, sendo acompanhada, em muitos casos por várias deformidades.

Essa patogenia também pode ser denominada necrose da cabeça do fêmur, embora de acordo com Almeida Paz et al. (2009) esta terminologia não seja adequada, e recomenda-se denominá-la degeneração da cartilagem epifisária do fêmur; pois necrose remete à morte celular por falta de vascularização e isto não ocorre nesta patologia. Segundo Mendonça Jr. (2000) e Julian (2005) esta lesão está geralmente associada à discondroplasia tibial, osteocondrose e síndrome da má absorção. O manejo inadequado na apanha dos frangos, carregados por uma perna pode determinar a ruptura da epífise do fêmur caracterizando-se o principal ponto de perdas ocasionadas por esta patologia. Em necropsia de frangos de corte é possível observar a desarticulação das pernas com separação da cartilagem articular do fêmur de sua placa de crescimento, em casos severos a cartilagem de articulação é inexistente. Em alguns casos, pode também ocorrer separação da placa de crescimento.

2.1.2 Discondroplasia tibial

A discondroplasia foi a patologia do sistema locomotor mais estudada por pesquisadores, por ser um problema até o ano de 2005 e, mesmo assim, ainda existem muitos fatores que a influenciam e que ainda não estão bem esclarecidos. Esta patologia caracteriza-se por massa cartilaginosa anormal, de coloração branca opaca, não vascularizada e com pouca mineralização na cartilagem de crescimento da epífise proximal da tíbia, podendo estar presente em sua epífise distal, nos fêmures e úmeros. Atingiu cerca de 2 a 20% das aves em lotes experimentais e comerciais, causando desconforto, claudicações e lotes desuniformes (RATH et al., 1998; PRAUL et al., 2000; ALMEIDA PAZ et al., 2005; ALMEIDA PAZ, 2008).

A discondroplasia em frangos pode envolver a cartilagem de conjugação, zona de crescimento do osso, mas ocorre com maior frequência na parte proximal da tíbia.

Normalmente a discondroplasia é bilateral, ocorrendo em ambas as pernas das aves. Esse distúrbio aparece frequentemente entre a 3ª e 8ª semanas de vida da ave, sendo os machos mais suscetíveis (GONZALES & MENDONÇA JR, 2006).

A prevalência da discondroplasia em frangos foi de 1 a 2% do lote, com incidência alcançando entre 40 a 50% em populações severamente afetadas até 2005, diante disso, os pesquisadores vêm trabalhando para melhorar a incidência de problemas locomotores. Além do descarte de aves durante o período de criação, refugadas por problema de pernas, a discondroplasia tibial é frequentemente associada com perdas nos abatedouros devido a fraturas tibianas (LEACH JR & LILBURN, 1992). Segundo Gonzales & Mendonça Jr. (2006), a incidência dessa patogenia pode ser afetada por fatores dietéticos. Mesmo linhagens selecionadas para baixa incidência de discondroplasia tibial podem ter o problema agravado quando associado com balanços nutricionais inadequados.

2.1.3 Desvios de articulações (*valgus* e *varus*) e *gait score*

As aves de crescimento rápido são as mais acometidas por desvios de articulações, podendo apresentar esta enfermidade desde a primeira semana de vida até a idade de abate. A deformidade é progressiva e a ave perde a mobilidade, ficando impossibilitada de ingerir água e alimentar-se. As deformidades *valgus* e *varus* são caracterizadas por um desvio lateral, *valgus*, ou medial, *varus*, de uma ou de ambas as pernas (MENDONÇA JR, 2000; JULIAN, 2005; GONZALES & MENDONÇAS JR, 2006).

Em necropsia é possível observar rotação tibiotarsica, resultando em deformidade de articulação intertarsal e, conseqüentemente, o deslizamento parcial ou total do tendão de seus côndilos que se apresentam achatados. O metatarso proximal pode estar aumentado de tamanho (JULIAN, 2005; GONZALES & MENDONÇA JR, 2006). Admite-se que a deformidade angular ocorra devido a anormalidade genética, principalmente em frangos de corte selecionados para crescimento rápido. Também pode ser observado em pintinhos neonatos, atribuindo-se à má nutrição das matrizes, principalmente no verão. A imobilidade imposta ao frango de corte devido à alta densidade pode agravar ainda mais o problema, da mesma maneira que a falta de

exercício predispõe o aparecimento de deformidades ósseas (GONZALES & MENDONÇA JR, 2006).

As anomalias de articulações causam dificuldades locomotoras, afetando gravemente o caminhar das aves piorando o *gait score*. Kestin et al. (1992), desenvolveram o Sistema Bristol, baseado no padrão que a ave adota para se locomover. A forma como o frango de corte caminha é indicativo de seu bem-estar, devido a isso, foi desenvolvido um sistema de avaliação para o caminhar de frangos de corte, o *gait score*, que é uma medida subjetiva da habilidade da ave caminhar sobre uma superfície, a fim de avaliar o seu bem-estar e que pode ser realizada no aviário.

Esta medida foi amplamente adotada por importadores, principalmente europeus, para avaliação do bem-estar de frangos de corte, tornando-se uma barreira não tarifária para importação de carne de frangos do Brasil. Alguns mercados importadores estabeleceram que para a avaliação do *gait score*, os lotes que apresentarem 30% ou mais de aves com nota igual ou superior a 1, não estão aptos para importação. No entanto, alguns pesquisadores (WEEKS et al., 2000; GARNER et al., 2002) demonstraram que a medida *gait score* é um tanto imprecisa para avaliar o andar e demonstra poucas correlações com os problemas do sistema locomotor de frangos de corte. Ou seja, a maneira com que os frangos de corte caminham, nem sempre é afetada pela incidência de alguns problemas como degeneração femoral ou discondroplasia tibial, sendo que o *gait score* pode ser o mesmo para aves com ou sem estas lesões.

2.2 PODODERMATITE OU CALO DE PATA

O calo de pata, ou pododermatite, é um tipo de dermatite de contato que afeta a região plantar, ocasionando aparecimento de lesão, que se inicia com uma inflamação da pele. Esta lesão pode estar intimamente associada à alta densidade de alojamento, que é severamente criticada pelas associações de bem-estar animal (MARTRENCAR et al., 1997).

Em alguns casos, a pododermatite é o problema predominante em criações com alta densidade e em linhagens de crescimento rápido (TUCKER & WALKER, 1992 e DAWKINS et al., 2004). A seleção para rápida taxa de crescimento em frangos de corte foi acompanhada pela diminuição da capacidade de locomoção. Há ainda correlação altamente desfavorável entre o peso corporal e a habilidade de locomoção (KESTIN et

al., 2001). Nos casos severos, as úlceras podem comprometer o desenvolvimento das aves. Ainda segundo Martrenchar et al. (1997), infecções secundárias podem causar condenações parciais das carcaças.

A pododermatite é parte de um problema geral para a locomoção, mas conhecimentos específicos sobre os efeitos genéticos que propiciam estas lesões ainda são muito escassos (KJAER et al., 2006).

2.3 VITAMINA D

2.3.1 Metabolismo e funções da vitamina D nas aves

Vitaminas são compostos orgânicos complexos, essenciais para o metabolismo, mantendo as funções fisiológicas normais como o crescimento e desenvolvimento do organismo (ALBERS et al., 2002). A Vitamina D, classificada como lipossolúvel, pode ser sintetizada pelas plantas e pelos animais, sendo o colecalciferol e o ergocalciferol suas fontes mais utilizadas. O ergocalciferol (vitamina D₂) é utilizado como fonte de vitamina D nas rações e é originário de esteróides das plantas, chamado de ergosterol, que pela incidência de raios solares é convertido em vitamina D₂ (BERTECHINI, 2006). A vitamina D₂ (ergocalciferol) possui propriedades muito limitadas, atuando como fator antiosteopenia para aves (MACARI et al., 2002). Já o colecalciferol (vitamina D₃) é produzido exclusivamente pelos animais, por meio da conversão do 7-deidrocolesterol, derivado do colesterol ou esqualeno, sintetizado no fígado, está presente em grandes quantidades na pele, na parede intestinal e em outros tecidos e, também é convertido pela incidência de luz solar (BERTECHINI, 2006). Nas aves, o colecalciferol passa para a corrente sanguínea na forma de portomícrons, os quais chegam até o fígado. O colecalciferol, normalmente é absorvido na porção ascendente do duodeno, juntamente com lipídeos, outras vitaminas e compostos lipossolúveis pela ação conjunta de sais, ácidos biliares e lípases (KLASING, 1998).

A vitamina D₃ exerce inúmeras funções no metabolismo animal e dentre elas a de principal interesse é a regulação metabólica do cálcio e fósforo e a absorção intestinal desses minerais (ALBERS et al., 2002). A vitamina D na forma D₃ se encontra em elevadas concentrações em óleos de peixes e, em especial, no fígado. Contudo, na maioria dos ingredientes das rações, a vitamina D aparece em concentrações

relativamente baixas (MACARI et al., 2002), e por isso deve ser suplementada a fim de atender a exigência nutricional das aves. Embora ambas as formas de vitamina D quando convertidas tornam-se ativas, a vitamina D₃ tem atividade 10 vezes maior do que a vitamina D₂ (HURWITZ et al., 1967).

As vitaminas D₂ e D₃ não são biologicamente ativas, mas são convertidas *in vivo* a forma ativa da vitamina D por duas reações sequenciais de hidroxilação. A primeira hidroxilação ocorre na posição 25 e é catalisada pela hidroxilase específica no fígado. O produto da reação, o 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD₃), é a forma predominante da vitamina D no plasma, sendo importante forma de armazenamento da mesma. O 25-OHD₃ é posteriormente hidroxilado na porção primária por uma enzima específica, 25-hidroxicolecalciferol 1-hidroxilase, encontrada primariamente no rim. O resultado é a formação do composto denominado 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃) (CHAMPE & HARVEY, 1996).

A função geral do metabólito 1,25(OH)₂D₃ com ação combinada ao paratormônio – PTH é manter os níveis plasmáticos de cálcio e fósforo, funcionando basicamente como hormônio esteróide. O metabólito fisiologicamente ativo realiza estas funções por meio da captação crescente de cálcio e fósforo pelo intestino e por minimizar a perda de cálcio e fósforo pelos rins, estimulando a reabsorção óssea quando necessário (EDWARDS JR., 2000). A vitamina D atua basicamente em três locais: no intestino, nos ossos e nos rins, sendo que no duodeno participa da síntese da proteína transportadora de cálcio e esta mesma proteína também é encontrada nos rins. Além dessa proteína, a fosfatase alcalina e a adenosina trifosfatase cálcica também respondem ao estímulo da vitamina D. No tecido ósseo, a mobilização do cálcio do osso para o fluído extracelular ocorre a partir da ação conjunta do composto ativo da vitamina D, 1,25- (OH)₂D₃, e do hormônio da paratireóide. Além disso, a vitamina D participa da biossíntese do colágeno (MACARI et al., 2002). A vitamina D, por meio de suas ações no intestino, rins, ossos e glândulas paratiróideanas é um hormônio fundamental para a homeostase do cálcio e para o desenvolvimento de um esqueleto saudável (PEDROSA & CASTRO, 2005).

2.3.2 Vitamina 25-OHD₃

Dentre as inúmeras formas do metabólito ativo da vitamina D produzidos artificialmente pela indústria, os de principal interesse são o 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD₃) e o 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃) (BRITO, 2008). O tratamento com 1,25(OH)₂D₃ altera as características morfológicas das células intestinais e os tamanhos dos vilos e microvilos aumentaram com a suplementação de 1,25(OH)₂D₃ na dieta (SPIELVOGEL et al., 1972). De acordo com Mccarthy et al. (1984), a “borda em escova” dos enterócitos apresenta notável alteração da composição e estrutura das proteínas e lipídeos das células de superfície, correspondente ao aumento do transporte de cálcio mediado por 1,25(OH)₂D₃.

Embora o composto 1,25(OH)₂D₃ promova melhoria nas características morfológicas das células intestinais, Soares Jr. et al. (1995) relataram que o metabólito 25-OHD₃ tem maior potencial de uso em substituição à vitamina D₃, visto que a forma propriamente ativa produzida industrialmente, 1,25-(OH)₂D₃, apresenta efeito tóxico com pequenas doses de inclusão. Ainda de acordo com estes mesmos autores, o metabólito 25-OHD₃ é cerca de três vezes mais potente quando a característica em questão é a concentração de cálcio plasmático.

Com relação à toxidez do metabólito 25-OHD₃, Yarger et al. (1995) verificaram que a concentração plasmática deste metabólito aumenta rapidamente, em detrimento de outros tecidos (pele, peito e ossos) e ainda que o metabólito 25-OHD₃ é de cinco a dez vezes mais tóxico que a vitamina D₃. Porém, segundo os mesmos autores, a evidência de problemas relacionados à suplementação do metabólito 25-OHD₃ na ração, ocorre apenas quando esta suplementação é dez vezes maior que a exigência.

De acordo com Haussler & Rasmussen (1972), em frangos o 25-OHD₃ é reconhecido como o principal metabólito da vitamina D no sangue. Deste modo, com relação à suplementação de 25-OHD₃ em substituição à vitamina D₃, parte da maior eficácia pode ser devido às diferenças nas características de absorção (NECHAMA et al., 1977; SITRIN et al., 1982). De acordo com Bar et al. (1980), em frangos de corte a absorção de 25-OHD₃ foi relatada como mais rápida, 83%, do que para a vitamina D₃, 66% e essa absorção ocorre principalmente na porção proximal do jejuno. A absorção mais rápida de 25-OHD₃ pode ser atribuída à sua ligação com as proteínas intestinais, as

quais foram identificadas nas células intestinais (NECHAMA et al., 1977). Esta proteína tem afinidade com o metabólito 25-OHD₃ que é pelo menos mil vezes maior do que para outros metabólitos da vitamina D₃ (TEEGARDEN et al., 1997; 2000), assim pode-se supor que sua presença facilita a absorção de 25-OHD₃ e a absorção de cálcio.

De acordo com Sitrin & Bengoa (1987) e Maislos et al. (1981), a absorção do metabólito 25-OHD₃ ocorre independentemente da absorção de gordura, tornando assim o 25-OHD₃ uma suplementação a ser considerada nas rações iniciais para pintos e perus pois nesse período a lipase pancreática poderia limitar a absorção de colecalciferol (vitamina D₃). Ainda de acordo com Soares Jr. et al. (1995), este metabólito pode exercer efeitos além daqueles induzidos pela vitamina D₃. Como se comprovou por pesquisas recentes as quais indicaram que alguns tecidos poderiam ter exigência específica para 25-OHD₃ (VIETH, 1999). Em seus estudos, Yager et al. (1995) relataram que as concentrações do metabólito 25-OHD₃ no tecido foram menores em aves alimentadas com a vitamina D₃, mas aumentou várias vezes quando o 25-OHD₃ foi suplementado, sendo mais elevado na pele, pernas e tecidos do peito. Níveis circulantes e teciduais foram altamente associados com níveis dietéticos de 25-OHD₃, pelo menos dentro dos níveis suplementados.

Como consequência, outras funções também podem ser atribuídas ao metabólito 25-OHD₃ como melhor calcificação, levando a diminuição das doenças do sistema esquelético e problemas no metabolismo ósseo como a discondroplasia tibial, melhoria da eclodibilidade de ovos férteis e qualidade da casca do ovo. De acordo com Hurwitz & Bar (1981), a administração de 25-OHD₃ para perus com raquitismo resultou em rápida mineralização dos ossos. Em estudos do Instituto Roslin com administração do metabólito 25-OHD₃ (75 ug/kg de ração) para diminuir o percentual de crescimento anormal da placa tibial, Rennie & Whitehead, (1996), mostraram que a porcentagem de placas de crescimento normal em aves alimentadas com 25-OHD₃ foi de 88%, enquanto que a administração da quantidade equivalente de vitamina D₃ resultou em 35% das aves com placas de crescimento normal.

2.3.3 Uso de vitamina D₃ e 25-OHD₃ em anormalidades ósseas

As perdas com desuniformidade e mortalidade oneram os custos de produção de toda a cadeia avícola nacional. Em uma revisão, Edwards Jr. (2000) relatou que a

literatura científica aponta evidências de que pode haver o envolvimento de, no mínimo, oito vitaminas, 13 minerais e seis aminoácidos relacionados a anormalidades ósseas. Devido a isso, durante as últimas décadas, o foco de interesse dos nutricionistas em relação a esses problemas gerou uma série de estudos, entre os quais se destacam artigos sobre o efeito da vitamina D, do cálcio, do fósforo, do cloro, do zinco, do manganês, do cobre, das vitaminas A e C, da piridoxina, da colina, do ácido fólico, da niacina, da metionina, da cistina, da cisteína e da homocisteína (COOK, 2000).

Sobre a vitamina D, especificamente, há uma diversidade de trabalhos que buscaram associar a sua suplementação com a incidência de problemas ósseos e o desenvolvimento esquelético das aves (BRITO, 2008). Diretamente associada a absorção de cálcio e fósforo, a vitamina D na sua forma ativa, pode influenciar o aparecimento de anomalias ósseas (PIZAURO JR et al., 2002). A variação na relação cálcio e fósforo nas dietas e a deficiência de vitamina D parecem ser as principais causas nutricionais relacionadas à discondroplasia tibial (SULLIVAN, 1994).

Soares Jr. et al. (1995) citaram que o metabólito 25-OHD₃ é cerca de duas vezes mais potente que a vitamina D₃ (colecalfiferol) normalmente utilizado como fonte de vitamina D nas rações. E devido a isso, esses mesmos autores relataram que o 25-OHD₃ é o metabólito com maior potencial de uso, em substituição à vitamina D₃, visto que a forma propriamente ativa produzida artificialmente/industrialmente, o metabólito 1,25-(OH)₂D₃, apresenta efeito tóxico com pequenas doses de inclusão. Sobre a toxidez do metabólito 25-OHD₃, Yager et al. (1995) verificaram que a sua concentração plasmática aumenta rapidamente, em detrimento de outros tecidos como pele, peito e ossos. Houve evidências de problemas relacionados à calcificação renal que ocorreram quando a suplementação na ração foi maior que dez vezes a exigência, cerca de 27.600 UI/kg de ração. Os autores concluíram que o metabólito 25-OHD₃ é cinco a dez vezes mais tóxico que a vitamina D₃.

Em um estudo com dois níveis de suplementação de vitamina D₃, 1.000 e 1.250 UI/kg de ração, Edwards Jr. et al. (1996) verificaram que mesmo o nível mais alto não foi suficiente para prevenir o raquitismo e maximizar o teor de cinzas ósseas em frangos de corte. Fritts & Waldroup (2003) verificaram redução na incidência e na severidade de discondroplasia tibial e aumento de cinzas ósseas em uma linhagem de alta incidência de problemas ósseos, ao substituírem a suplementação de vitamina D₃ por 25-OHD₃.

2.3.4 Suplementação da vitamina D₃ e 25-OHD₃ sobre o desempenho de frangos de corte

Alguns autores, Yarger et al. (1995), verificaram melhoria no desempenho, principalmente em ganho de peso e eficiência alimentar, em uma série de ensaios envolvendo 36 mil frangos de corte, quando a suplementação de vitamina D₃ foi substituída por 25-OHD₃, sem afetar a mortalidade. Os mesmos autores observaram também melhorias nas características de desempenho com a suplementação de níveis crescentes de 25-OHD₃. Entretanto, o mesmo não foi verificado com a suplementação de vitamina D₃. A concentração sérica de 25-OHD₃ aumentou mais rapidamente em aves alimentadas com rações contendo este metabólito em relação à aves alimentadas com colecalciferol. Em outro estudo Yarger et al. (1995) também verificaram melhor desempenho de frangos de corte com a suplementação de 2.760 UI/kg 25-OHD₃ em relação ao colecalciferol.

Diferentemente, Rennie & Whitehead (1996) verificaram que o desempenho não foi afetado ao substituir a suplementação de 3.000 UI/kg de vitamina D₃ pelo metabólito 25-OHD₃ no mesmo nível. Em outro estudo, avaliando os efeitos da suplementação de 2.200 UI/kg de 25-OHD₃ em rações para linhagens de frangos de corte de baixa e alta incidência de problemas de pernas, Zhang et al. (1997) verificaram que a suplementação adicional de 2.760 e 13.780 UI/kg do metabólito de vitamina D não melhorou o desempenho das aves.

2.3.5 Recomendações e necessidades nutricionais de vitamina D para frangos de corte

Com relação às recomendações de vitamina D₃, independente da fase de criação, os dados encontrados na literatura são bastante divergentes e, normalmente os níveis utilizados a campo são superiores aos recomendados. Segundo o NRC (1994), a recomendação de vitamina D₃, independente da fase de criação, é de 200 UI/kg de ração. Porém este valor está bastante inferior ao preconizado atualmente por Rostagno et al. (2011) para as condições brasileiras de criação de frangos de corte. De acordo com suas recomendações, os níveis de vitamina D₃ para uma dieta de desempenho superior nas fases de criação pré-inicial, inicial, crescimento e final de criação deve ser de 2.375, 2.090, 1.900 e 1.425 UI/kg de ração, respectivamente.

Pode-se inferir que estes níveis não são frequentemente utilizados, pois de acordo com Coelho et al. (2001) as indústrias de suplementos sempre trabalham com margem de segurança, principalmente para as vitaminas lipossolúveis, em torno de cinco a dez vezes a mais que as reais necessidades das aves. O que se pode comprovar o guia de suplementação vitamínica para animais domésticos (DSM, 2005) que indica que para qualquer fase de criação a recomendação é de níveis de suplementação de 2.000 a 4.000 UI/kg. Mas para se chegar a melhor compreensão da aplicação desses níveis deve-se ressaltar os fatores ligados a estas recomendações, ou seja, necessidades das aves, tipo de manejo e condições climáticas (SANFELICE, 2012).

Portanto, diante da complexidade e da ampla variação das condições da avicultura nacional, torna-se necessária a realização de mais pesquisas nesta área, visando esclarecer possíveis efeitos do aumento ou da redução da suplementação da vitamina D e de seus metabólitos (BRITO, 2008).

O Capítulo 2 intitulado “PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)” foi redigido com a intenção de ser publicado na **Revista Brasileira de Zootecnia**.

O Capítulo 3 intitulado “SUPLEMENTAÇÃO DA VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE” foi redigido com a intenção de ser publicado na Revista *Journal of Animal Science*.

O Capítulo 4 intitulado “CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)” foi redigido com a intenção de ser publicado na **Revista Brasileira de Zootecnia**.

O Capítulo 5 apresenta as implicações do trabalho.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERS, N. et al. **Vitamins in Animal Nutrition**. Bonn: AWT, 2002. 77 p.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. Problemas locomotores e técnicas de mensuração. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2008, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2008. p.57-68.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Comparison of techniques for tibial dyschondroplasia assessment in broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.7, n.1, p.27-31, 2005.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Follow-up of the development of femoral degeneration lesions in broilers. **International Journal of Morphology**, v.27, n.2, p.571-575, 2009.
- BAINS, B.S.; BRAKE, J.T.; PARDUE, S.L. Reducing leg weakness in commercial broilers. **World Poultry Science**, v.14, n.1, p.24-27, 1998.
- BAR, A. et al. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds. **Journal of Nutrition**, v.110, p.1930-1934, 1980.
- BÉLGICA. The welfare of chickens kept for meat production (Broilers). **Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare**. European Commission Report, Brussels, 2000.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301 p.
- BRITO, J.A.G. **Vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD₃) em rações de frangos de corte**. 2008. 120f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2008.
- CHAMPE, P.C., HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996. 446p.
- COELHO, M.; MCKNIGHT, W.; COUSINS, B. Effect of a targeted B-vitamin regimen on rate and efficiency of fast growing broilers from 0 to 49 days. **Poultry Science**, v.80, n.832, Suppl.1, p.201, 2001.
- COOK, M.E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.982-984, 2000.
- CORR, S.A. et al. The effect of morphology on walking ability in the modern broiler: A gait analysis study. **Animal Welfare**, v.12, p.159-171, 2003.

- DAWKINS, M.S.; DONNELLY, C.A.; JONES, T.A. Chicken welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density. **Nature**, v.427, p.342-344, 2004.
- DSM Vitamins Supplementation Guidelines for domestic animals. Switzerland: DSM Nutritional Products, 2005.
- EDWARDS JUNIOR, H.M. Nutrition and skeletal problems in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1018-1023, 2000.
- EDWARDS JUNIOR, H.M.; CARLOS, A.B.; KASIM, A. Evaluation of commercial cholecalciferol (D3) sources. **Poultry Science**, v.75, n.1, 1996.
- FALCONE, C. **Manejo e bem-estar em frangos de corte**: grau de alteração no andar e incidência de deformidades ósseas, e seus efeitos sobre a atividade locomotora. 2007. 139 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.
- FRITTS, C.A.; WALDROUP, P. W. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.12, n.1, p.45-52, 2003.
- GARNER, J.P. et al. Reliability and validity of a modified gait scoring system and its use in assessing tibial dyschondroplasia in broilers. **British Poultry Science**, v.43, n.3, p.355-363, 2002.
- GONZALES, E.; MACARI, M. Enfermidades metabólicas em frangos de corte. In: BERCHIERI JÚNIOR, A; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000, p.449-464.
- GONZALES, E.; MENDONÇA JUNIOR, C.X. Problemas locomotores em frangos de corte. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, VII, 2006, Chapecó-SC. **Anais...** p.79-94, 2006.
- HAUSSLER, M. R.; RASMUSSEN, H. The metabolism of vitamin D3 in the chick. **Journal of Biology Chemistry**, v.247, p.2328-2335, 1972.
- HURWITZ, S. et al. Comparison of the actions of vitamins D2 and D3 in the chick with their retention in serum, liver and intestinal mucosa. **The Journal of Nutrition**, v.91, p.208-212, 1967.
- HURWITZ, S.; BAR, A. Calcium, phosphorus, and vitamin D deficiencies in young turkeys: Diagnosis and treatment. **Minnesota Turkey Research**, v.179, p.33-41, 1981.
- JULIAN, R.J. Rapid growth problems: Ascites and skeletal deformities in broilers. **Poultry Science**, v.77, p.1773-1780, 1998.

- JULIAN, R.J. Patologias ósseas em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. p.107-122.
- KEALY, J.K. **Diagnostic radiology of the dog and cat**. 1. ed. Philadelphia: Saunders Company, 1987. 547p.
- KESTIN, S.C.; KNOWLES, T.G.; TINCH, A.E.; GREGORY, N.G. Prevalence of leg weakness in broiler chickens and its relationship with genotype. **Veterinary Record**, v.131, p.190-194, 1992.
- KESTIN, S.C.; SU, G.; SORENSEN, P. Different commercial broiler crosser have different susceptibilities to leg weakness. **Poultry Science**, v.78, p.1085-1090, 1999.
- KESTIN, S.C. et al. Relationships in broiler chickens between lameness, live weight, growth rate and age. **Veterinary Record**, v.148, p.195-197, 2001.
- KJAER, J.B. et al. Foot pad dermatitis and hock burn in broiler chickens and degree of inheritance. **Poultry Science**, v.85, n.8, p.1342-1348, 2006.
- KLASING, K.C. **Comparative avian nutrition**. Wallingford: CAB international, 1998. 350p.
- LEACH JUNIOR, R.M.; LILBURN, M.S. Current knowledge on the etiology of tibia dyschondroplasia in the avian species. **Poultry Science Review**, v.4, p.57-65, 1992
- LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Broiler breeder production**. 1. ed. Canada: University Books, 2000. 329p.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 375p.
- MAISLOS, M.; SILVER, J.; FAINARU, M. Intestinal absorption of vitamin D sterols: differential absorption into lymph and portal blood in the rat. **Gastroenterology**, v.80, n.6, p.1528-1534, 1981.
- MARTRENCAR, A. et al. The effect of stocking density and group size on different behavioural and productivity traits of broilers. In: 5th European Symposium on Poultry Welfare, 1997, Wageningen. **Proceeding...** Wageningen: Agricultural University, 1997. p.153-154.
- McCARTHY, J.T.; BARHAM, S.S.; KUMAR, R. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ rapidly alters the morphology of the duodenal mucosa of rachitic chicks: evidence for novel effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biological**, v.21, p.253, 1984.

- McCOY, M.A.; REILLY, G.A.C. Density and breaking strength of bones of mortalities among caged layers. **Research in Veterinary Science**. v.60, p.185-186, 1996.
- MENDONÇA JUNIOR, C.X. Enfermidades do Sistema Locomotor. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.29-36.
- MORRIS, M.P. National survey of leg problems. **Broiler Industry**, v.5, p.20-24, 1993.
- MURAKAMI, A. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. p.33-56.
- NECHAMA, H. et al. The intestinal absorption of vitamin D and its metabolites. **Journal of Molecular Medicine**, v.2, p.413-422, 1977.
- NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of poultry**. Washington: National Academy Press, 9. ed., 1994. 155p.
- PEDROSA, M.A.C.; CASTRO, M.L. Papel da Vitamina D na função neuro-muscular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.49, n.4, p.495-502, 2005.
- PIZAURO JUNIOR, J.M.; CIACAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: Mecanismos de lesão e controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.169-185, 2002.
- PRAUL, C.A.; FORD, B.C.; GAY, C.V. Gene expression and tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v.79, p.1009-1013, 2000.
- RATH, N.C. et al. Cell death in avian tibial dyschondroplasia. **Avian Diseases**; v.42, p.72-79, 1998.
- RATH, N.C. et al. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven-and seventy-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, n.8, p.1232-1239, 1999.
- RENNIE, J.S. et al. Studies on effects of nutritional factors on bone structure and osteoporosis in laying hens. **British Poultry Science**, v.38, p.417-424, 1997.
- RENNIE, J.S.; WHITEHEAD, C.C. Effectiveness of dietary 25- and 1 25- hydroxy cholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **British Poultry Science**, v.37, n.2, p.413-421, 1996.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2011. 252p.

- SANFELICE, C. **Efeito da suplementação de vitamina D₃ (25-hidroxi-colecalciferol) na fase final sobre o cálcio sanguíneo e qualidade da carne em frangos de corte.** 2012. 124f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Faculdade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2012.
- SITRIN, M.D. et al. Comparison of vitamin D and 25- hydroxyvitamin D absorption in the rat. **American Journal of Physiology.** v.242, p.326-332, 1982.
- SITRIN, M.D.; BENGGOA, J.M. Intestinal absorption of cholecalciferol and 25hydroxycholecalciferol in chronic cholestatic liver disease. **The American Journal of Clinical Nutrition,** v.46, p.1011-1015, 1987.
- SOARES JUNIOR, J.H.; KERR, J.M.; GRAY, R.W. 25-Hydroxycholecalciferol in poultry Nutrition. **Poultry Science,** v.74, n.12, p.1919-1934, 1995.
- SPIELVOGEL, A.M.; FARLEY, R.D.; NORMAN, A.W. Studies on the mechanism of action of calciferol. V. Turnover time of chick intestinal epithelial cells in relation to the intestinal action of vitamin D. **Experimental Cell Research,** v.74, n.2, p.359-366, 1972.
- SULLIVAN, T.W. Skeletal problems in poultry: Estimated annual cost and description. **Poultry Science,** v.73, n.6, p.879-882, 1994.
- TARDIN, A.C. Visão nutricional dos problemas locomotores em frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1995. p.71-83.
- TEEGARDEN, D.; MERIDETH, S.C.; SITRIN, M. Isolation and characterization of a 25-hydroxyvitamin binding protein from rat enterocyte cytosol. **The Journal of Nutritional Biochemistry,** v. 8, p. 195-200, 1997.
- TEEGARDEN, D.; NICKEL K.P.; SHI, L. Characterization of 25-hydroxvitamin D binding protein from intestinal cells. **Biochemistry and Biophysical Research Communications.** v. 275, p. 845-849, 2000.
- TUCKER, S.A.; WALKER, A. W. Hock burn in broilers. In: ARNSWORTHY, P.C.; HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. **Recent Advance in Animal Nutrition.** UK: Oxford, 1992. p.33-49.
- UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2012. Disponível em:<<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>> Acesso em: 30 Jan. 2013.
- VARGAS JUNIOR, J.G. et al. Níveis nutricionais de cálcio para aves de reposição leves e semipesadas de 13 a 20 semanas de idade. In: 39ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2002, Recife. **Anais...** Brasília-DF: SBZ, 2002.

- VIETH, R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, n.5, p.842-856, 1999.
- WEEKS, C.A. et al. The behavior of broiler chickens and its modification by lameness. **Applied Animal Behavior Science**, v.67, n.1-2, p.111-125, 2000.
- YARGER, J.G. et al. Safety of 25- Hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, v.74, n.9, p.1437-1446, 1995.
- ZHANG, Z.H. et al. Metal-catalyzed oxidation and mutagenesis studies on the iron (II) binding site of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase. **Biochemistry**, v.36, p.15999–16007, 1997.

CAPÍTULO 2

PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)

**PODODERMATITE E DESEMPENHO EM FRANGOS DE CORTE
SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃
(25-HIDROXI-COLECALCIFEROL)**

RESUMO – Com o objetivo de avaliar a pododermatite e o desempenho em frangos de corte, foram alojados em aviário experimental da FMVZ-UNESP/Botucatu 750 frangos de corte machos da linhagem Cobb®, com densidade populacional de 12 aves/m², por 42 dias. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 30 aves cada, totalizando 25 parcelas experimentais. Os tratamentos foram constituídos por duas fontes de suplementação de vitamina D (D₃ e 25-OHD₃). O tratamento 1, controle, seguiu as recomendações de Rostagno et al. (2011) para a vitamina D₃, de acordo com cada fase de criação para frangos de corte. O tratamento 2 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 1.400 UI de 25-OHD₃; o tratamento 3 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 2.800 UI de 25-OHD₃; o tratamento 4 e o tratamento 5 foram constituídos apenas de vitamina D₃ e, seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 2 e do tratamento 3, respectivamente. Para o desempenho das aves foi calculado o consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar durante todo o período de criação, ao final foi calculada a viabilidade e o índice de eficiência produtiva. Aos 42 dias, 100 aves de cada tratamento foram avaliadas, no aviário, para pododermatite. Posteriormente as aves foram abatidas e realizadas análises histopatológicas do coxim plantar. Houve diferença pelo Teste de Quiquadrado (p<0,05) para a avaliação da incidência de pododermatite apenas para a perna esquerda. Os tratamentos não influenciaram o desempenho das aves e não foi observada diferença histopatológica entre lesões iniciais e severas, exceto em sua extensão. Conclui-se que as suplementações de vitamina D₃ e/ou a utilização conjunta das duas fontes de vitamina D (D₃ e 25-OHD₃) não melhoram o desempenho e a incidência de pododermatite de frangos de corte.

Palavras-chave: aves, calo de pata, coxim plantar, derme, epiderme.

PODODERMATITIS AND PERFORMANCE OF BROILERS SUPPLEMENTED WITH VITAMIN D₃ (CHOLECALCIFEROL) AND 25-OHD₃ (25-HYDROXY-CHOLECALCIFEROL)

ABSTRACT - Seven hundred and fifty Cobb® male broiler chickens were kept in a population density of 12 birds / m² in the experimental aviary of FMVZ-UNESP/Botucatu during 42 days to evaluate the lesions of pododermatitis and performance. The experiment was carried out in a completely randomized design with five treatments and five repetitions of 30 birds each, totalizing 25 experimental parcels. Treatments were consisted of two sources of vitamin D (D₃ and 25-OHD₃). The first treatment (T1- control) followed the recommendations of Rostagno et al. (2011) for vitamin D₃ according to each life stage of broiler chickens. Treatment 2 was the combination of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 1,400 UI of 25-OHD₃; treatment 3 was consisted of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 2,800 UI of 25-OHD₃; treatment 4 and 5 were consisted of only vitamin D₃ and the levels were based on the sum of levels from the two sources of vitamin D₃ of treatment 2 and 3, respectively. Feed intake, weight gain and feed:gain rate were calculated to evaluate the performance of broilers throughout the breeding period, viability and production efficiency index were also evaluated at the end. Pododermatitis and histological analyses of footpad were evaluated from one hundred broilers at 42 days of age. Through the Chi-Square Test (P<0.05) it could be seen a difference for pododermatitis incidence only for the left leg. Treatments did not affect the broiler performance and it was not observed histopathological differences between initial and severe lesions, except in its extension. In conclusion the supplementation of vitamin D₃, alone or associated with 25-OHD₃, did not improve the performance neither the incidence of pododermatitis of broiler chickens.

Key words: callus of paw, birds footpad, dermis, epidermis

INTRODUÇÃO

Na avicultura industrial existe constante preocupação relacionada à genética, nutrição e manejo, bem como suas interações, levando a constantes pesquisas e resultados que são de extrema importância na solução de problemas relacionados a essa atividade. De certa forma, pode-se dizer que o melhoramento genético animal é o principal aspecto deste trinômio, direcionando a seleção das aves para melhores índices de produtividade.

A avicultura brasileira é uma das atividades que mais se desenvolveu dentro do setor agropecuário, pois apresenta alta eficiência e volume de produção graças aos constantes avanços tecnológicos obtidos, aliados à utilização da seleção genética, nutrição e sanidade direcionando para a melhoria de demais índices zootécnicos de interesse.

De acordo com a União Brasileira de Avicultura a produção da carne de frango em 2011 chegou a 13,058 milhões de toneladas em um crescimento de 6,8% em relação a 2010. Com este desempenho o Brasil se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2011 teria somado 13,2 milhões de toneladas, estando abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,757 milhões de toneladas conforme projeções do Departamento de Agricultura dos EUA (UBABEF, 2012).

Dentre os problemas encontrados na avicultura, estão as claudicações relacionadas a problemas locomotores e a pododermatite em frangos de corte. As aves com dores ósseas ficam a maior parte do tempo sentadas sobre as articulações tíbiotarsometatarsianas e provavelmente têm maior predisposição para desenvolver afecções como bolhas no peito, calos, feridas nos pés e queimaduras na região do tarso chamadas dermatites de contato, que podem resultar em depreciação da carcaça (KESTIN et al., 1999; SU et al., 1999).

A pododermatite, também conhecida como “calo de pé”, é uma lesão no coxim plantar, comum em frangos de corte, criados sobre camas úmidas e compactadas (SANTOS et al., 2002), ocasionada pelo contato da pata da ave sobre a cama, sendo que quanto mais jovem e com mais peso depositado em sua carcaça, maior é a incidência de calos de pata.

As dermatites de contato são lesões erosivas da pele, predominantes na superfície plantar de frangos de corte e perus. A etiologia apresenta uma inflamação da

pele devido a uma combinação de nutrição, umidade, fatores cáusticos e características físicas da cama. Em casos extremos ocorre prejuízo à locomoção das aves, podendo surgir infecções secundárias, representando piora das condições de bem-estar das aves durante o processo de produção e levando à condenação parcial das carcaças no abatedouro. As pododermatites passaram a ter maior relevância nos últimos anos devido ao direcionamento dos pés de frangos para os mercados da Ásia e portanto o rendimento percentual de patas passou a ser um fator econômico importante (VIEIRA, 2009).

De acordo com Tucker & Walker (1992) e Dawkins et al. (2004), a pododermatite, em alguns casos, é um dos problemas mais predominantes em criações com alta densidade e em linhagens de crescimento rápido utilizando-se cama reutilizada. A seleção para rápida taxa de crescimento em frango de corte foi acompanhada pela diminuição da capacidade de locomoção. Há ainda correlação altamente desfavorável entre o peso corporal e a habilidade de locomoção (KESTIN et al., 2001). Nos casos severos, as úlceras podem comprometer o desenvolvimento das aves. Ainda segundo Martrenchar et al. (1997), infecções secundárias podem causar condenações parciais das carcaças.

Contudo, durante as últimas décadas, o foco de interesse dos nutricionistas em relação à esses problemas gerou uma série de estudos, entre os quais se destacam artigos sobre o efeito da vitamina D, do cálcio, do fósforo, do cloro, do zinco, do manganês, do cobre, das vitaminas A e C, da piridoxina, da colina, do ácido fólico, da niacina, da metionina, da cistina, da cisteína e da homocisteína (COOK, 2000).

Sobre a vitamina D, especificamente, há uma diversidade de trabalhos que buscam associar a sua suplementação com a incidência de problemas ósseos e o desenvolvimento esquelético das aves (BRITO, 2008). Além disso, a vitamina D₃ está presente em grandes quantidades na pele, na parede intestinal e em outros tecidos, e também é convertida pela incidência de luz solar (BERTECHINI, 2006).

Alguns estudos apontam que a vitamina D₃ ou o metabólito 25-OHD₃, provavelmente podem melhorar o desempenho zootécnico de frangos de corte, assim como Yarger et al. (1995a), verificaram melhor desempenho de frangos de corte com a suplementação de 2.760 UI/kg de 25-OHD₃ em relação ao colecalciferol. Ainda, em outro estudo, Yarger et al. (1995b) verificaram melhoria no desempenho, principalmente em ganho de peso e eficiência alimentar em uma série de ensaios

envolvendo 36 mil frangos de corte, quando a suplementação de vitamina D₃ foi substituída por 25-OHD₃, sem afetar a mortalidade.

Assim sendo, objetivou-se com este estudo avaliar a pododermatite e o desempenho em frangos de corte suplementados com vitamina D₃ (colecalfiferol) e a sua ação conjunta com o metabólito 25-OHD₃ (25-hidroxi-colecalfiferol).

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo foram alojados 750 pintos de 1 dia de idade, machos, da linhagem Cobb®, com densidade populacional de 12 aves/m², durante 42 dias nas instalações experimentais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia FMVZ/UNESP, Campus de Botucatu. O experimento foi conduzido no período de novembro a dezembro do ano de 2011 e utilizado cama nova de maravalha. As aves foram vacinadas no incubatório contra a doença de Marek, Newcastle e Gumboro.

O aviário experimental possui 40m de comprimento por 8,0m de largura, pé direito de 3,50m, e está dividido em 48 boxes de 3,25 x 1,55m, perfazendo um total de 5m² cada. Na ocasião deste trabalho o tamanho dos boxes foi adequado para a densidade de 12 aves por m². Cada boxe é separado por mureta de alvenaria de 40cm de altura e está equipado com um comedouro tubular com capacidade para 20kg de ração e um bebedouro pendular. As paredes laterais são de alvenaria com altura de 40cm, seguidas de telas de arame galvanizado e protegidas com cortinas móveis. O aviário é dotado de ventiladores distribuídos de forma a promover ventilação homogênea em todos os boxes.

O sistema de manejo adotado foi o tradicionalmente utilizado nas criações comerciais de frangos de corte. Durante a primeira semana de idade foram utilizados bebedouros do tipo copo de pressão e comedouros tubulares infantis. A partir da segunda semana, foram substituídos por bebedouros pendulares e comedouros tubulares. O aquecimento inicial foi realizado com campânulas elétricas providas de lâmpadas infravermelhas de 250W até o final da 2ª semana, uma em cada boxe. A iluminação artificial do aviário foi fornecida de forma a completar 24 horas diárias de luz durante todo o período de criação, utilizando-se lâmpadas de 40W, de forma a se obter 22 lumens/m². A partir dos 14 dias de idade, foram utilizados ventiladores conforme a necessidade das aves. O experimento foi aprovado pela comissão de ética no

uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia sob o protocolo nº 236/2011-CEUA.

1. TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições de 30 aves cada, totalizando 25 parcelas experimentais. Os tratamentos experimentais foram constituídos por duas fontes de suplementação de vitamina D (D_3 e 25-OHD₃). O tratamento 1, controle, seguiu as recomendações de Rostagno et al. (2011) para a vitamina D_3 , de acordo com cada fase de criação para frangos de corte. O tratamento 2 foi constituído de vitamina D_3 (mesma dosagem do tratamento controle) + 1.400 UI de 25-OHD₃; o tratamento 3 foi constituído de vitamina D_3 (mesma dosagem do tratamento controle) + 2.800 UI de 25-OHD₃; o tratamento 4 e o tratamento 5 foram constituídos apenas de vitamina D_3 e seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 2 e do tratamento 3, respectivamente. Os tratamentos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis e fontes de suplementação de vitamina D para frangos de corte em diferentes fases de criação.

Fase/ Tratamento	Pré-Inicial (1-7 dias)	Inicial (8-21 dias)	Crescimento (22-35 dias)	Final (36-42 dias)
T1	2.375 UI Vit. D_3 /kg	2.090 UI Vit. D_3 /kg	1.900 UI Vit. D_3 /kg	1.425 UI Vit. D_3 /kg
T2	2.375 UI Vit. D_3 /kg + 1.400 UI 25-OHD ₃ /kg	2.090 UI Vit. D_3 /kg + 1.400 UI 25-OHD ₃ /kg	1.900 UI Vit. D_3 /kg + 1.400 UI 25-OHD ₃ /kg	1.425 UI Vit. D_3 /kg + 1.400 UI 25-OHD ₃ /kg
T3	2.375 UI Vit. D_3 /kg + 2.800 UI 25-OHD ₃ /kg	2.090 UI Vit. D_3 /kg + 2.800 UI 25-OHD ₃ /kg	1.900 UI Vit. D_3 /kg + 2.800 UI 25-OHD ₃ /kg	1.425 UI Vit. D_3 /kg + 2.800 UI 25-OHD ₃ /kg
T4	3.775 UI Vit. D_3 /kg	3.490 UI Vit. D_3 /kg	3.300 UI Vit. D_3 /kg	2.825 UI Vit. D_3 /kg
T5	5.175 UI Vit. D_3 /kg	4.890 UI Vit. D_3 /kg	4.700 UI Vit. D_3 /kg	4.225 UI Vit. D_3 /kg

Durante todo o período de criação os frangos de corte receberam ração e água à vontade. Na Tabela 2 encontram-se as composições percentuais e calculadas das rações experimentais nas diferentes fases de criação. Foram utilizadas rações isoprotéicas e isocalóricas, elaboradas a base de milho e soja para frangos de corte com crescimento superior, segundo as recomendações nutricionais de Rostagno et al., (2011).

Tabela 2. Composições centesimais e nutricionais calculadas das rações experimentais.

Ingredientes	Pré-inicial 1-7 dias	Inicial 8-21 dias	Crescimento 22-35 dias	Final 36-42 dias
Milho (fubá)	53,694	56,509	59,190	63,389
Farelo de soja (45%)	39,195	36,200	32,434	28,920
Óleo de soja	2,700	3,400	4,470	4,360
Fosfato bicálcico	1,950	1,300	1,490	1,000
Calcário calcítico	0,930	1,100	0,910	0,910
DL-metionina	0,226	0,226	0,226	0,226
L-lisina HCl	0,325	0,320	0,325	0,250
Treonina	0,105	0,070	0,080	0,070
Anticoccidiano ¹	0,050	0,050	0,050	0,050
Suplemento vit. ²	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento min. ³	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina	0,060	0,060	0,060	0,060
Sal comum	0,515	0,515	0,515	0,515
Inerte (caulim)	0,100	0,100	0,100	0,100
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Composição Nutricional Calculada				
EM (kcal/kg)	2960	3050	3150	3200
Proteína Bruta %	22,40	21,20	19,80	18,40
Cálcio %	0,92	0,84	0,76	0,66
P disp. %	0,39	0,35	0,32	0,28
Lis. Digestível %	1,32	1,217	1,13	1,06
Met. Digestível %	0,52	0,47	0,45	0,42
Met+Cist Digest. %	0,95	0,88	0,83	0,77

Sendo - EM = energia metabolizável; P disp = fósforo disponível; Lis = lisina; Met = metionina; Cist = cistina.
¹Maduramicina. ²Níveis de garantia por kg de ração para as fases pré-inicial e inicial: vit. A 11.000 UI; vit. E 16 UI; vit. K3 1,5 mg; vit. B1 1,2 mg; vit. B2 4,5 mg; vit. B6 2,0 mg; vit. B12 16 µg; ácido fólico 0,4 mg; ácido pantotênico 9,2 mg; biotina 0,06 mg; niacina 35 mg; selênio 0,25 mg; níveis de garantia por kg de ração para a fase crescimento: vit. A 9.000 UI; vit. E 14 UI; vit. K3 1,5 mg; vit. B1 1,0 mg; vit. B2 4 mg; vit. B6 1,8 mg; vit. B12 12 µg; ácido fólico 0,3 mg; ácido pantotênico 8,28 mg; biotina 0,05 mg; niacina 30 mg; selênio 0,25 mg; níveis de garantia por kg de ração para a fase final: vit. A 3.000 UI; vit. E 5 UI; vit. K3 0,5 mg; vit. B1 0,3 mg; vit. B2 1 mg; vit. B6 0,4 mg; vit. B12 3 µg; ácido pantotênico 3,68 mg; biotina 0,015 mg; niacina 5 mg; ³níveis de garantia por kg de ração: cobre 9,0 mg; iodo 1,0 mg; zinco 60 mg; ferro 30 mg manganês 60 mg.

O desempenho dos frangos de corte machos foi avaliado determinando-se o peso corporal, consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar em cada período de criação (1-7; 8-21; 22-35 e 36-42 dias de idade) e ao final a viabilidade e o índice de eficiência produtiva. Aos 42 dias, 100 frangos de corte por tratamento foram avaliados no aviário para incidência de pododermatite. Destes, 60 frangos de corte de cada tratamento foram pesados, insensibilizados por eletronarcose e eutanasiados mediante corte de veia jugular e artéria carótida.

2. PODODERMATITE: AVALIAÇÃO DE LESÕES DE COXIM PLANTAR – MACROSCOPIA E HISTOPATOLOGIA

Esta avaliação foi realizada em duas etapas. Primeiramente as patas de 100 frangos de corte por tratamento foram avaliadas por meio da observação da integridade do coxim plantar. Quando houve lesão esta teve seu diâmetro medido, com auxílio de um paquímetro digital, atribuindo-se escores que variaram de 1 a 3, onde o escore 1 foi considerado um coxim sem lesão, o escore 2 equivaleu-se a uma lesão inicial, com diâmetro até 5mm e o escore 3 a uma lesão severa, com diâmetro acima de 5mm.

No momento do abate, foram selecionadas e coletadas para fixação em formalina tamponada 10% as regiões do coxim plantar de cinco frangos de corte, dentro de cada escore macroscópico, em cada um dos tratamentos para a avaliação histopatológica das lesões. Posteriormente, todas as peças foram incluídas em parafina para serem cortadas de 5-7 μ m de espessura. Estes cortes histológicos foram recolhidos em lâminas e corados com hematoxilina e eosina (HE). A avaliação das lesões foi realizada no Laboratório de Anatomia do Instituto de Biociência de Botucatu – UNESP.

3. DESEMPENHO DAS AVES

Os frangos de corte de todos os boxes foram pesados em balança digital com capacidade para 15,0kg e precisão de 1g, no alojamento aos 7, 21, 35 e 42 dias de idade. O ganho de peso foi obtido pela diferença entre o peso ao final de cada fase e o peso inicial no alojamento. O consumo de ração em cada fase foi calculado descontando-se da quantidade de ração fornecida, as sobras de ração no final de cada período, com base no número de frangos vivos. A conversão alimentar para cada fase foi calculada através da divisão do consumo de ração pelo ganho de peso e corrigida pelo peso dos frangos

mortos no período. Todos os dias, foi registrada a mortalidade do lote expressa em porcentagem, foram anotados o peso, a data do óbito e calculada pela relação entre o número de frangos mortos no período e o número inicial de frangos alojados. E por fim, o índice de eficiência produtiva foi calculado por meio da fórmula: ((ganho de peso médio diário (g) x viabilidade (%)) / conversão alimentar) / 10.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram analisados pelo *Software* Estatístico Minitab 16 (MINITAB, 2010). O desempenho foi analisado pela análise de variância, ao nível de significância de 5%, sendo complementada pelo Teste Tukey ($p < 0,05$). A pododermatite foi analisada pelo Teste de Quiquadrado ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. PODODERMATITE: AVALIAÇÃO DE LESÕES DE COXIM PLANTAR – MACROSCOPIA E HISTOPATOLOGIA

1.1 Avaliação macroscópica de lesões de coxim plantar

Os resultados macroscópicos para coxim plantar foram semelhantes para todos os tratamentos estudados, ou seja, para o escore 1, onde o coxim plantar apresentou-se sem lesão, a pele com coloração amarelada e íntegra. No escore 2 a lesão se apresentou com coloração levemente escurecida e diâmetro até 5mm e mantendo-se restrita ao coxim plantar, enquanto que no escore 3, a lesão apresentou coloração tendendo a um marrom acastanhado, sendo o diâmetro da lesão acima de 5mm, podendo se estender para as articulações interfalângicas e társicas (Figura 1).

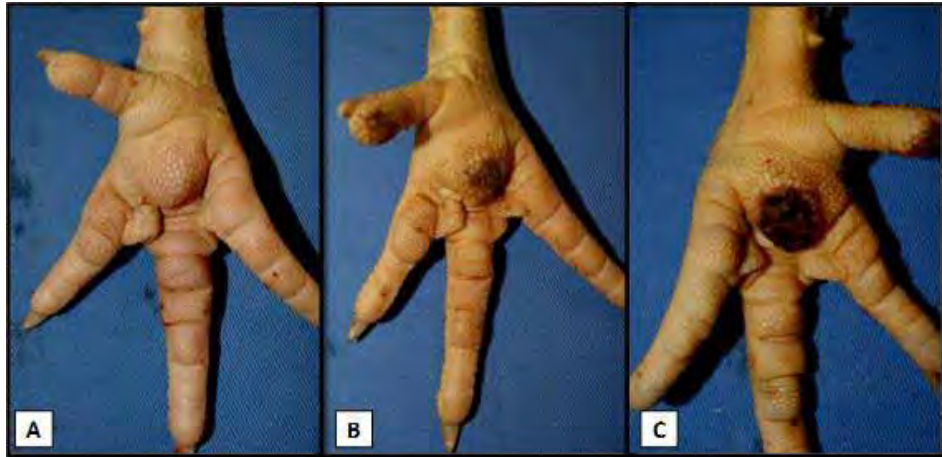


Figura 1. Fotografia dos escores macroscópicos do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa).

Houve diferença pelo Teste de Quiquadrado ($p < 0,05$) para a incidência de pododermatite apenas para a perna esquerda. O tratamento 5 diferiu dos demais, com exceção do tratamento 1. E o tratamento 2 diferiu dos tratamentos 1 e 5 (Tabela 3).

Tabela 3. Incidência de pododermatite em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D_3 e a combinação entre vitamina D_3 e 25-OHD $_3$.

TRAT	Lesão (Esquerda)*			Lesão (Direita)		
	1	2	3	1	2	3
1	23	57	20	21	56	23
2	11	52	37	10	58	32
3	21	49	30	24	53	23
4	21	48	31	15	59	26
5	13	69	18	18	63	19

* ($p < 0,05$).

Pode-se observar que o tratamento 5 difere do tratamento 2 com relação aos escores 2, lesão inicial e 3, lesão severa e ainda difere dos tratamentos 3 e 4 com relação a todos os escores de lesão. Também foi possível observar que o tratamento 2 difere do tratamento 1 em relação aos escores 1, sem lesão e 3, lesão severa de pododermatite.

A maior incidência de pododermatite foi detectada para o escore 2, lesão inicial, em ambas as patas em todos os tratamentos estudados e menos de 24% dos frangos avaliados não apresentaram a lesão. Em seu estudo, Santos et al. (2002)

relataram que o estágio inicial da lesão, onde ocorre apenas a descoloração da região do coxim plantar pouco interfere na forma de comercialização do corte, mas quando as erosões e úlceras começam a se formar, há grande perda na qualidade e que dependendo da sua extensão ainda é possível fazer um aproveitamento parcial dos pés e patas. Contudo a pododermatite é uma lesão que determina perda da qualidade desses cortes no mercado externo.

1.2 Avaliação histopatológica de lesões de coxim plantar

No escore 1 foi possível observar a integridade de todas as camadas da epiderme, sendo elas: camada germinativa (CG), a qual tem o potencial de divisão mitótica, camada espinhosa (CE), cujas células são caracterizadas por expansões citoplasmáticas, camada granulosa (CGr), cujo citoplasma apresenta grânulos de queratohialina, camada lúcida (CL), cujas células são anucleadas e perdem grande parte de suas organelas e camada córnea (CC), onde as células são mortas e totalmente preenchidas por queratina (Figura 2).

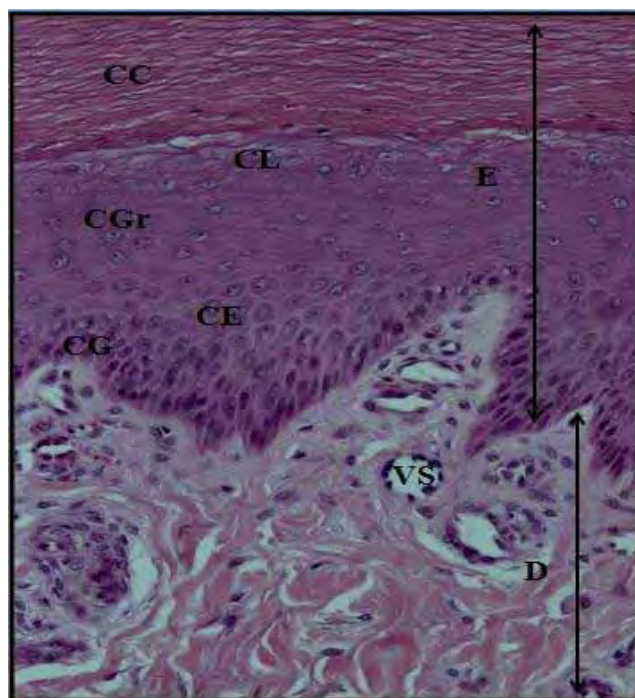


Figura 2. Fotomicrografia do coxim plantar sem lesão de frangos de corte aos 42 dias de idade. Epiderme (E), derme (D), camada germinativa (CG), camada espinhosa (CE), camada granulosa (CGr), camada lúcida (CL), camada córnea (CC), vaso sanguíneo (VS). HE, 40X.

Não foi possível constatar diferenças morfológicas entre os tratamentos e escores, sendo que no escore 1, coxim plantar sem lesão, as diferentes camadas da epiderme apresentaram-se íntegras. Já no escore 2, coxim plantar com lesão inicial e no escore 3, coxim plantar com lesão severa, as alterações morfológicas entre os tratamentos foram semelhantes diferindo apenas na extensão da lesão. Ainda nos escores 2, lesão inicial e 3, lesão severa, as alterações caracterizaram-se pela presença da camada córnea da epiderme com sua espessura modificada, ausência das outras camadas da epiderme, além da invasão de células da derme para a proximidade da camada córnea (Figura 3). Resultados semelhantes foram encontrados por Teixeira (2008), que não observou diferença histológica no comprometimento dos pés pelas lesões que justificassem a separação entre os pés com lesões iniciais e severas.

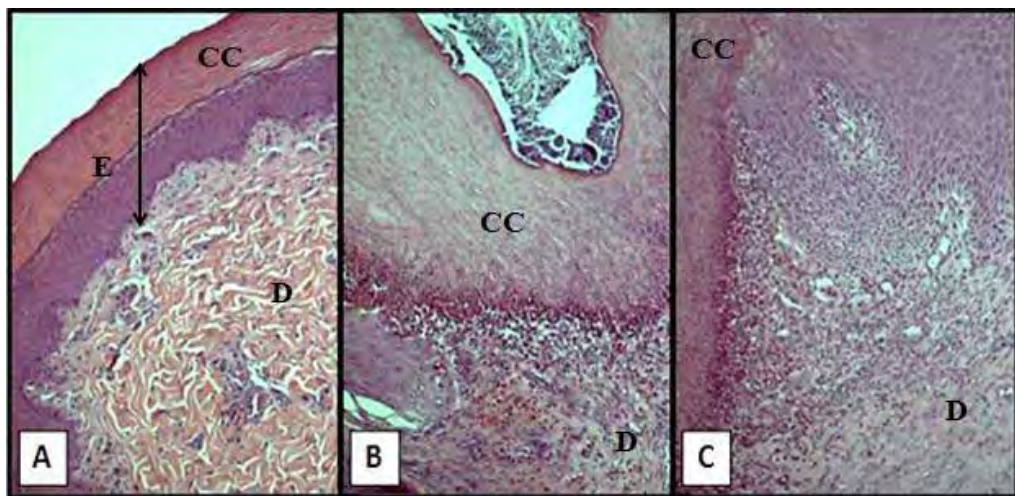


Figura 3. Fotomicrografia do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa). Epiderme (E), derme (D), camada córnea (CC). HE, 20X.

Esses resultados diferem dos encontrados por Martins et al. (2011), em que foram constatadas alterações morfológicas progressivas de acordo com os escores mais severos.

Nos escores de lesão 2 e 3 foi possível verificar a ausência ou diminuição do número de papilas dérmicas, as quais garantem adesão da camada dermo-epidérmica. Foi possível verificar a invasão de células da derme para a camada córnea da epiderme,

sendo que visualmente o maior número de células que invadiram a epiderme se manifestou no escore 3, o mais severo. Ainda foram observadas na borda da epiderme, células das camadas mais internas que a constitui, embora com bastante alterações (Figura 4). Além disso, na camada papilar da derme foi possível observar a presença de alguns nódulos linfáticos que se formaram em resposta de defesa devido à lesão severa (Figura 5).

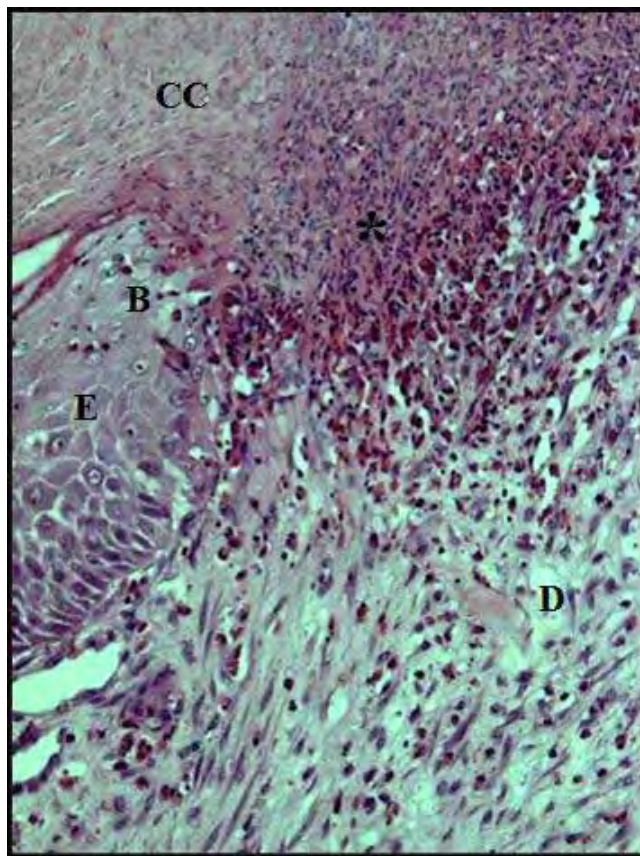


Figura 4. Fotomicrografia de Escore 3 (lesão severa) do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Células da derme invadindo a epiderme (*), epiderme (E), derme (D), borda da epiderme (B), camada córnea (CC). HE, 40X.

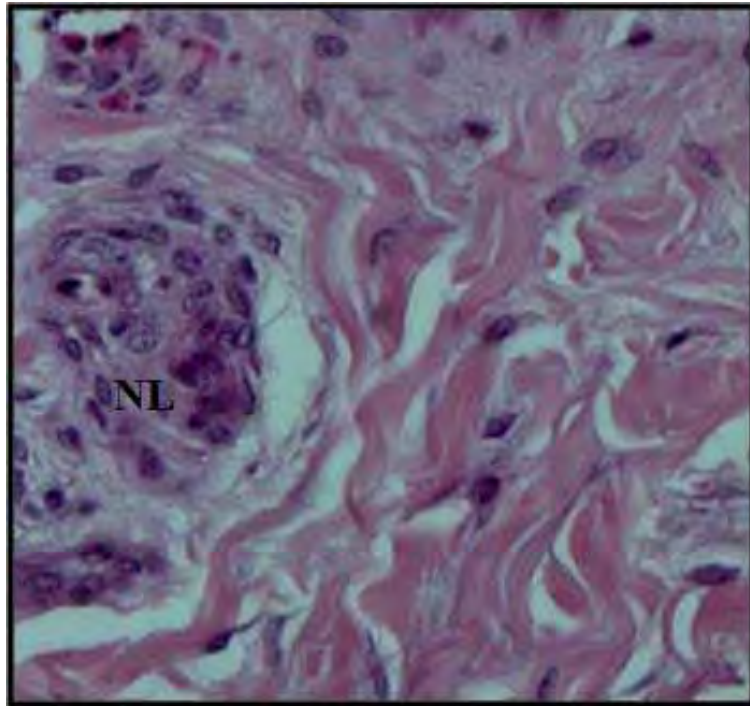


Figura 5. Fotomicrografia do coxim plantar de frangos de corte aos 42 dias de idade. Nódulo linfático (NL). HE, 40X.

2. DESEMPENHO

Não houve diferença para as variáveis estudadas ($p > 0,05$), ganho de peso médio (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade (VB) e índice de eficiência produtiva (IEP) entre as suplementações de vitamina D₃ ou a utilização conjunta das duas fontes de vitamina D (D₃ e 25-OHD₃) na ração sobre o desempenho dos frangos de corte nos intervalos de criação de 1 a 7, 1 a 21, 1 a 35 e 1 a 42 dias de idade (Tabela 4).

Tabela 4. Ganho de peso médio (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade (VB) e índice de eficiência produtiva (IEP) de frangos de corte nos intervalos de criação 1-7, 1-21, 1-35 e 1-42 dias de idade sob os diferentes tratamentos.

Variáveis	Tratamentos					CV ⁶ (%)
	T1 ¹	T2 ²	T3 ³	T4 ⁴	T5 ⁵	
1-7 dias						
GP (g)	187,99	193,93	183,50	182,97	181,87	3,86
CR (g)	141,63	140,30	139,04	140,28	138,76	2,60
CA (g/g)	0,76	0,73	0,76	0,74	0,75	4,01
VB (%)	99,33	100,00	99,33	100,00	100,00	0,60
1-21 dias						
GP (g)	949,82	961,05	934,89	942,18	925,07	2,70
CR (g)	1290,83	1289,10	1285,59	1266,08	1293,13	3,70
CA (g/g)	1,36	1,35	1,38	1,37	1,41	3,24
VB (%)	98,67	99,33	98,67	94,67	96,67	2,60
1-35 dias						
GP (g)	2121,60	2202,24	2048,31	2086,19	2067,56	4,44
CR (g)	3333,4	3366,4	3224,7	3163,4	3234,8	4,40
CA (g/g)	1,60	1,55	1,61	1,55	1,58	2,93
VB (%)	93,33	96,00	95,33	90,67	94,67	4,81
1-42 dias						
GP (g)	2616,6	2697,7	2563,8	2562,0	2566,4	5,16
CR (g)	4430,1	4473,6	4331,5	4257,8	4373,3	4,57
CA (g/g)	1,74	1,70	1,74	1,69	1,73	3,19
VB (%)	91,33	92,67	93,33	89,33	93,33	6,03
IEP	328,82	350,19	330,17	322,82	331,34	11,77

¹Tratamento controle: seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2011) para a vitamina D₃, de acordo com cada fase de criação para frangos de corte (pré-inicial, inicial, crescimento e final).

²Tratamento 2: a partir dos valores recomendados, foram constituídos de vitamina D₃ somados a 1.400 UI de 25-OHD₃; ³Tratamento 3: a partir dos valores recomendados, foram constituídos de vitamina D₃ somados a 2.800 UI de 25-OHD₃; ⁴Tratamento 4: constituído somente de vitamina D₃, e seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 2; ⁵Tratamento 5: constituído somente de vitamina D₃, e seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 3. ⁶Coefficiente de Variação.

Resultados semelhantes foram encontrados por Brito et al. (2010), que não observaram diferenças no desempenho das aves em função dos programas de suplementação de vitamina D, independente da fonte utilizada no estudo, entretanto, as aves alimentadas com rações contendo duas fontes de vitamina D apresentaram maior consumo de ração em relação à média dos frangos provenientes da suplementação isolada de cada fonte de vitamina D.

Outros autores (KORVER, 2005; FRITTS & WALDROUP, 2005) também não verificaram diferenças no desempenho de aves que receberam suplementação de fontes de vitamina D na dieta. Por outro lado, Rao et al. (2006), verificaram aumento no ganho de peso e melhora na conversão alimentar de frangos de corte aos 42 dias de idade, alimentados com rações contendo 60 µg/kg (2.400 UI/kg) e 90 µg/kg (3.600 UI/kg) de vitamina D₃, e com níveis reduzidos de 0,50% de cálcio e 0,25% de fósforo disponível, em comparação aos menores níveis de suplementação, 5 e 30 µg/kg.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com a maioria dos resultados disponíveis na literatura envolvendo vitamina D, que geralmente não observaram grandes diferenças no desempenho das aves nas diferentes fases de criação (Tabela 4). Segundo Fritts & Waldroup (2005) uma das possíveis causas para não ter ocorrido melhora no desempenho pode ser devido aos níveis de cálcio, fósforo disponível, energia e proteína estarem atendendo às necessidades nutricionais das aves.

CONCLUSÃO

As suplementações da vitamina D₃ e a sua utilização conjunta com o metabólito ativo 25-OHD₃, não influenciaram o desempenho e não melhoraram a incidência de pododermatite em frangos de corte machos aos 42 dias de idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301 p.
- BRITO, J.A.G. **Vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD₃) em rações de frangos de corte**. 2008. 120f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2008.
- BRITO, J.A.G. et al. Efeito da vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2656-2663, 2010.
- COOK, M.E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.982-984, 2000.

- DAWKINS, M.S.; DONNELLY, C.A.; JONES, T.A. Chicken welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density. **Nature**, v.427, p.342-344, 2004.
- FRITTS, C.A.; WALDROP, P.W. Comparasion of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in broilers diets designed to minimize phosphorus excretion. **Journal Applied Poultry Research**, v.14, n.1, p.156-166, 2005.
- KESTIN, S.C.; SU, G.; SORENSEN, P. Different commercial broiler crosser have different susceptibilities to leg weakness. **Poultry Science**, v.78, p.1085-1090, 1999.
- KESTIN, S.C. et al. Relationships in broiler chickens between lameness, live weight, growth rate and age. **Veterinary Record**, v.148, p.195-197, 2001.
- KORVER, D. Research, analytical techniques and pratical experiences using HyD™. In: ARKANSAS NUTRITION CONFERENCE, 2005, Arkansas. **Proceedings...** Arkansas, 2005. p.12.
- MARTINS, B.B. et al. Caracterização histológica da degeneração femoral de frangos de corte. In: XXII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 2011, Argentina. **Anais...** XXII Congresso Latino Americano de Avicultura, Buenos Aires, Argentina, 2011.
- MARTRENCAR, A. et al. The effect of stocking density and group size on different behavioural and productivity traits of broilers. In: 5th EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY WELFARE, 1997, Wageningen. **Proceeding...** Wageningen: Agricultural University, 1997. p.153-154.
- MINITAB® Statistical Software [computer program], version 16. State College, PA: **Minitab Inc**, 2010.
- RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retetion in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n.4, p.493-501, 2006.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2011. 252p.
- SANTOS, R.L.; NUNES, V.A.; BAIÃO, N.C. Pododermatite de contato em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.6, 2002.
- SU, G.; SORENSEN, P.; KESTIN, S. C. Meal feeding is more effective than early feed restriction at reducing the prevalence of leg weakness in broiler chickens. **Poultry Science**, v.78, p.949-955, 1999.

- TEIXEIRA, V.Q. **Anatomopatologia e bacteriologia da pododermatite em frangos de corte sob inspeção sanitária**. 2008. 54f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, 2008.
- TUCKER, S.A.; WALKER, A.W. Hock burn in broilers. In: ARNSWORTHY, P.C.; HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. **Recent Advance in Animal Nutrition**. UK: Oxford, 1992. p.33-49.
- UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2012. Disponível em:<<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>> Acesso em: 30 Jan. 2013.
- VIEIRA, S.L. Defeitos Visuais – Dermatites de Contato. In: **Qualidade visual de carcaça de frangos de corte: uma abordagem a partir do ambiente de produção**. 2.ed. Cascavel: Gráfica Positiva, 2009. p.55-59.
- YARGER, J.G. et al. Safety of 25- Hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, v.74, n.9, p.1437-1446, 1995a.
- YARGER, J.G. et al. Comparison of dietary 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol in broiler chickens. **Poultry Science**, v.74, p.1159-1167, 1995b.

CAPÍTULO 3

VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE

VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-COLECALCIFEROL) E PROBLEMAS LOCOMOTORES EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO – Com o objetivo de avaliar problemas locomotores em frangos de corte, foram alojados em aviário experimental da FMVZ-UNESP/Botucatu 750 frangos de corte, machos, da linhagem Cobb®, com densidade populacional de 12 aves/m², por 42 dias. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 30 aves, totalizando 25 parcelas experimentais. Os tratamentos foram constituídos por duas fontes de suplementação de vitamina D (D₃ e 25-OHD₃). O tratamento 1, controle, seguiu as recomendações de Rostagno et al. (2011) para a vitamina D₃, de acordo com cada fase de criação para frangos de corte. O tratamento 2 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 1.400 UI de 25-OHD₃; o tratamento 3 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 2.800 UI de 25-OHD₃; o tratamento 4 e o tratamento 5 foram constituídos apenas de vitamina D₃ e, seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 2 e do tratamento 3, respectivamente. Aos 42 dias, 100 aves de cada tratamento foram avaliadas no aviário por *gait score* e deformidade *valgus* e *varus*. Destas aves, 60 de cada tratamento foram abatidas e, posteriormente, foram analisadas macroscopicamente a cabeça dos fêmures e a epífise proximal das tíbias direitas e esquerdas, para avaliação do escore de lesão por degeneração femoral e discondroplasia tibial. Para avaliação histológica, foram utilizadas, cinco aves de cada escore de degeneração femoral por tratamento. Com a suplementação da vitamina D, em diferentes fontes, os frangos de corte machos não apresentam índices de discondroplasia tibial aos 42 dias de idade. E ainda os animais submetidos aos tratamentos com a combinação de vitamina D₃ e 25-OHD₃, nos escores iniciais e mais severos de degeneração femoral, mostram histopatologicamente melhor arranjo celular.

Palavras-chave: degeneração femoral, discondroplasia tibial, *gait score*, osso

VITAMIN D₃ (CHOLECALCIFEROL) AND 25-OHD₃ (25-HYDROXY-CHOLECALCIFEROL) AND LEG PROBLEMS OF BROILER CHICKENS

ABSTRACT - During 42 days, 750 Cobb[®] male broiler chicks were housed in the experimental aviary of FMVZ-UNESP/Botucatu under a population density of 12 birds / m² with the aim of evaluating leg problems. The experiment was carried out in a completely randomized design with five treatments and five repetitions of 30 birds each, totalizing 25 experimental parcels. Treatments were consisted of two sources of vitamin D (vitamin D₃ and 25-OHD₃). The first treatment (T1- control) followed the recommendations of Rostagno et al. (2011) for vitamin D₃ according to each life stage of broiler chickens. Treatment 2 was the combination of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 1,400 UI of 25-OHD₃; treatment 3 was consisted of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 2,800 UI of 25-OHD₃; treatment 4 and 5 were consisted of only vitamin D₃ and the levels were based on the sum of levels from the two sources of vitamin D₃ of treatment 2 and 3, respectively. *Valgus* and *varus* deformity and gait score of 100 birds were determined at 42 days old. From each treatment 60 broilers were slaughtered and femoral head and proximal tibia epiphysis were macroscopically analyzed for the evaluation of lesion score through femoral degeneration and tibial dyschondroplasia. Histological evaluation was determined using five broilers from each femoral degeneration score per treatment. With supplementation of vitamin D in different sources, the broilers did not present levels of tibial dyschondroplasia at 42 days of age. And yet the animals fed with the combination of vitamin D₃ and 25-OHD₃ in initial scores and more severe degeneration femoral histopathologically show better cellular arrangement.

Key words: femoral degeneration, tibial dyschondroplasia, gait score, bone

INTRODUÇÃO

Segundo a União Brasileira de Avicultura a produção da carne de frango em 2011 chegou a 13,058 milhões de toneladas em um crescimento de 6,8% em relação a 2010. Com este desempenho o Brasil se aproxima da China, hoje o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2011 teria somado 13,2 milhões de toneladas, estando abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,757 milhões de toneladas conforme projeções do Departamento de Agricultura dos EUA. O crescimento de 2011 foi impulsionado principalmente pelo aumento do consumo de carne de frango e pela expansão de 3,2% nas exportações. Como resultado da produção em 2011, o consumo *per capita* de carne de frango, foi de 47,4 quilos por pessoa e os embarques somaram 3,942 milhões de toneladas em 2011, conferindo ao Brasil a continuidade de maior exportador de carne de frango. No caso da receita cambial, de US\$ 8,2 milhões, o incremento foi de 21,2% (UBABEF, 2012).

A alta produtividade de frangos de corte se deve, principalmente, às pesquisas que levaram à obtenção de aves com potencial genético de crescimento rápido aliados à nutrição, manejo e sanidade quando comparado a outras espécies animais. Com isto, há sobrecarga do sistema locomotor, o desenvolvimento do tecido ósseo não tem acompanhado estes processos fisiológicos, sendo observado acentuado aumento no aparecimento de anormalidades ósseas em frangos de corte, ocasionando sérios prejuízos zootécnicos e na qualidade das carcaças (SULLIVAN, 1994).

Os problemas locomotores são de grande importância para a avicultura mundial, pois a dificuldade de locomoção não está apenas relacionada com perdas econômicas mensuráveis, como condenações e desclassificações de carcaças em abatedouros, mas também, com perdas não mensuráveis.

As perdas mensuráveis ocorrem devido às aves com problemas locomotores permanecerem mais tempo sentadas, apoiando o peito na cama do aviário, o que pode causar lesões nesta região. Já as perdas não mensuráveis caracterizam-se pela queda no desempenho devido ao retardo do crescimento das aves com claudicações. Isso se deve à estas aves não conseguirem chegar ao comedouro e bebedouro, dificultando a ingestão de ração e água, tornando-se assim mais frágeis e leves e, conseqüentemente, apresentando piores resultados zootécnicos.

As claudicações em frangos de corte englobam séries de problemas esqueléticos que podem, ou não, aparecer associados, como o raquitismo, discondroplasia tibial, degeneração femoral, desvios de coluna, espondilolistese, e desvios de articulações, *valgus* e *varus* (JULIAN, 2005; PAIXÃO et al., 2007; NÄÄS et al., 2009).

São muitas as formas para avaliação de problemas locomotores em frangos de corte. Os exames histopatológicos geralmente são utilizados em pesquisas, para detecção de padrões de comportamento do tecido ósseo e adjacentes quando um problema se instala. Em campo, as metodologias mais comumente utilizadas são o exame visual para a avaliação do bem-estar das aves e consequente avaliação da locomoção das aves, denominado de *gait score* e avaliação macroscópica da região afetada, o que envolve sacrifício da ave e secção ou deslocamento do osso.

O sistema de estimativa de *gait score* para frangos de corte foi desenvolvido na Universidade de Bristol, Inglaterra, com o intuito de avaliar o bem-estar das aves e consequentemente tem sido utilizado para avaliação de problemas locomotores. A metodologia consiste em observação empírica de fatores locomotores das aves, entretanto, por ser individual, é de difícil comparação entre observadores, requer cuidado especial principalmente nas medidas intermediárias, uma vez que, tanto o frango normal, como aquele que não consegue andar (extremos) são de fácil detecção (NÄÄS et al., 2010).

Os fatores associados a problemas de perna são inúmeros e a velocidade de ganho de peso aliado ao manejo e ao ambiente parecem ser os principais deles. Secundariamente, aspectos nutricionais, como níveis de cálcio, fósforo, alguns microminerais, principalmente zinco e manganês, aminoácidos e algumas vitaminas, dentre as quais se destaca a vitamina D, que apresenta papel primordial no metabolismo de cálcio e fósforo, e consequentemente, na formação e no desenvolvimento do esqueleto, podem influenciar, de acordo com os níveis e as fontes de suplementação utilizadas, a incidência e a severidade desses problemas (BRITO, 2008).

De maneira geral, a utilização de níveis à campo de suplementação da vitamina D, em diferentes fases de criação, foge às recomendações do National Research Council (1994), assim como há uma série de trabalhos na literatura científica, divergentes em relação à fonte utilizada e aos resultados de redução de problemas de perna e anomalias ósseas (BRITO, 2008).

Devido à importância que o setor avícola representa para a economia do país, é fundamental adequar-se às exigências internacionais dos padrões de qualidade, procurando sempre recursos alternativos de melhoria para os problemas locomotores das aves, sem grande incremento no custo de produção.

Assim sendo, objetivou-se com a realização do presente estudo, avaliar os problemas locomotores em frangos de corte machos que receberam suplementação de vitamina D₃ (colecalfiferol) e a sua associação com 25-OHD₃ (25-hidroxy-colecalfiferol) na ração.

MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental e os tratamentos utilizados foram os mesmos descritos no Capítulo anterior.

Aos 42 dias, 100 frangos de corte por tratamento foram avaliados, no aviário por *gait score* e deformidades *valgus* e *varus*. Destes, 60 frangos de cada tratamento foram pesados, insensibilizados por eletronarcose e eutanasiados mediante corte de veia jugular e artéria carótida. Posteriormente tiveram a cabeça do fêmur e a epífise proximal das tíbias direitas e esquerdas analisadas macroscopicamente, para avaliação do escore de lesão por degeneração femoral e discondroplasia tibial.

1. AVALIAÇÃO DE PROBLEMAS LOCOMOTORES

1.1 Análise macroscópica e histológica da cabeça do fêmur – degeneração femoral

Para detectar lesão de degeneração femoral foram realizadas avaliações macroscópicas da cabeça do fêmur de 60 frangos de corte por tratamento aos 42 dias de idade. As peças ósseas foram examinadas macroscopicamente no momento do abate e atribuídos escores variando entre 1 e 3. Sendo que o escore 1 equivale a uma peça sem lesão, o escore 2 equivale a uma peça com lesão inicial, no qual pode-se verificar que a cartilagem articular não está presente revestindo o osso, podendo, ou não, ser encontrada no acetábulo e o escore 3 equivale a uma peça com lesão severa, onde não existe mais contorno evidente da cabeça do fêmur (ALMEIDA PAZ, 2008).

Após serem examinadas macroscopicamente as pernas foram desossadas e a região da cabeça e colo do fêmur de cinco frangos de corte de cada escore por tratamento foi coletada em formalina tamponada 10%. Posteriormente, todas as peças foram descalcificadas em solução de ácido acético a 10% e incluídas em parafina para serem cortadas de 5-7 μ m de espessura. Estes cortes histológicos foram recolhidos em lâminas e corados com hematoxilina e eosina (HE). A avaliação das lesões foi realizada no Laboratório de Anatomia do Instituto de Biociência de Botucatu – UNESP.

Nos animais que não apresentam lesões de degeneração femoral, ou seja, sem doença degenerativa dos ossos (escore 1), pode-se observar a cartilagem articular íntegra, bem como as diferentes zonas que constituem a cartilagem epifisária, sendo elas:

Zona de Repouso: Onde há cartilagem hialina sem nenhuma alteração morfológica e as células que a constitui não apresentam potencial mitótico.

Zona de Proliferação: Nesta região os condrócitos se dividem rapidamente e se dispõem em fileiras ou colunas paralelas de células achatadas e empilhadas no sentido longitudinal do osso.

Zona Hipertrófica: Nesta região os condrócitos apresentam-se como células volumosas, arredondadas e os mesmos entram em apoptose.

Zona de Calcificação: Nesta zona ocorre a mineralização das traves ósseas culminando com o final da apoptose dos condrócitos. A partir dessa última zona já observa-se presença de tecido ósseo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

1.2 Análise macroscópica da tíbia – discondroplasia tibial

Para a avaliação da lesão de discondroplasia tibial foram realizadas análises macroscópicas da epífise proximal da tíbia de 60 frangos de corte por tratamento. Esta avaliação foi realizada baseando-se no espessamento da cartilagem na placa de crescimento da epífise proximal da tíbia. Para isso, esta região de cada tíbia foi seccionada longitudinalmente atribuindo escores que variaram entre 1 e 3, dependendo do espessamento da cartilagem, sendo que o escore 1 indica que não há espessamento na cartilagem de crescimento, o escore 2 indica espessamento da cartilagem que varia entre 1 e 3mm; e o escore 3 foi referente a um espessamento maior que 3mm (ALMEIDA PAZ, 2008).

1.3 Avaliação da locomoção – *gait score*

O *gait score* é uma medida subjetiva utilizada à campo para avaliar o bem-estar das aves e a habilidade da ave em caminhar sobre uma superfície. A princípio esta medida pode ser realizada em aviários, sendo que se faz uma amostragem de aves e observa-se o deslocamento das mesmas em uma distância de 1m. Uma ave normal, com escore 1 deve andar normalmente, sem claudicação e dar no mínimo 10 passos ininterruptos em 1m; uma ave com escore 2 anda com dificuldade e dá entre 6 e 10 passos em 1m; a ave com escore 3 tem muita dificuldade para andar e dá menos que 6 passos em 1m (ALMEIDA PAZ, 2008). A avaliação de *gait score* foi realizada dentro do aviário experimental em 100 frangos de corte por tratamento. No corredor do aviário foi marcada no chão a distância de 1m com uma fita adesiva, posteriormente os frangos de corte foram selecionados individualmente e posicionados um por vez nesta marcação para observar sua locomoção e realizar a atribuição dos escores.

1.4 Avaliação de deformidades *valgus* e *varus*

Esta avaliação foi realizada no aviário experimental, logo após a avaliação de *gait score* e consiste em avaliar a angulação das articulações da perna. Para isto foi utilizado um paquímetro, uma régua e um transferidor para avaliar o ângulo formado entre a tíbia e o dedo três nas pernas direitas e esquerdas, quando a angulação foi negativa caracterizou-se a deformidade *varus* e quando a angulação foi positiva, caracterizou-se a deformidade *valgus* de acordo com a metodologia de Almeida Paz et al. (2010).

2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram analisados pelo *Software* Estatístico Minitab 16 (MINITAB, 2010). As variáveis de degeneração femoral, discondroplasia tibial, *gait score* e *valgus* e *varus* foram analisadas pelo Teste de Quiquadrado ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. ANÁLISE MACROSCÓPICA E HISTOLÓGICA DA CABEÇA DO FÊMUR – DEGENERACÃO FEMORAL

1.1 Análise macroscópica da cabeça do fêmur – degeneração femoral

De maneira similar aos resultados encontrados por Almeida Paz et al. (2007) e por Martins et al. (2011) foi possível verificar que a degeneração femoral no escore 1, ou seja, sem lesão, a cabeça do fêmur apresentava cartilagem articular íntegra. No escore 2, onde os fêmures apresentavam lesão inicial, foi observado que a cartilagem articular apresentava-se ausente em algumas áreas e em outras com coloração avermelhada. Por último, no escore mais severo da lesão, o escore 3, a cabeça do fêmur apresentava-se com contorno morfológico alterado e com extensa área sem cartilagem articular (Figura 1).

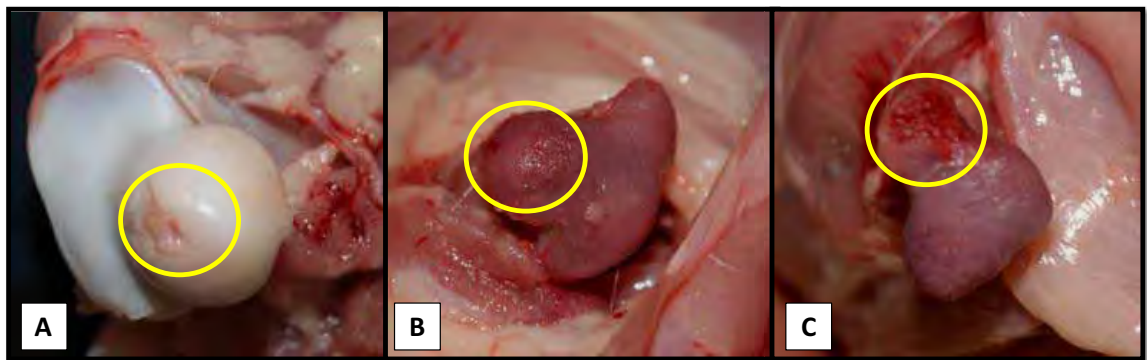


Figura 1. Fotografia dos escores macroscópicos da cabeça do fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em A) Escore 1 (sem lesão), B) Escore 2 (lesão inicial) e C) Escore 3 (lesão severa).

Não foi possível verificar diferença pelo Teste de Quiquadrado ($p>0,05$) para as avaliações macroscópicas de degeneração femoral (Tabela 1).

Contudo, determinando a incidência de escore de degeneração femoral em ambas as pernas, foi possível verificar para o tratamento 1, controle, maior incidência de escore 1 (sem lesão) para a perna direita, enquanto para a perna esquerda a maior incidência ocorreu para o escore 2, lesão inicial. Já para os tratamentos 2 (Vit. D₃ + 1.400

UI de 25-OHD₃), 3 (Vit. D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃) e 5 (Vit. D₃ em maior dosagem) foi possível verificar tanto para a perna direita como para esquerda que o escore 1, sem lesão, foi predominante. No tratamento 4 (Vit. D₃ em dosagem média) foi possível verificar maior incidência de escore 2, lesão inicial, para a perna direita e de escore 1 (sem lesão) para a perna esquerda.

Tabela 1. Incidência de degeneração femoral em frangos de corte aos 42 dias de idade.

TRAT	DF (perna esquerda)* (%)			DF (perna direita)* (%)		
	1	2	3	1	2	3
1	30,6	53,2	16,2	48,4	40,3	11,3
2	52,5	37,3	10,2	45,8	42,4	11,8
3	60,7	29,5	9,8	50,8	34,4	14,8
4	46,7	41,6	11,7	45,0	46,7	8,3
5	63,3	28,4	8,3	63,3	30,0	6,7

*p>0,05

Houve predominância do escore 1, sem lesão de degeneração femoral, em todos os tratamentos, exceto para a perna esquerda do tratamento 1, controle, e para a perna direita do tratamento 4.

Embora não tenha sido observada diferença (p>0,05) para incidência de escore de degeneração femoral, numericamente observou-se que os tratamentos 3 e 5, com maiores dosagens de vitamina D (independente da fonte utilizada) apresentaram maior número de aves sem lesão de degeneração femoral.

Em estudo realizado por Martins et al. (2011), foi constatado que a degeneração femoral para o escore 1 não apresentou diferença em relação a linhagem e sexo analisados, enquanto que nos escores 2 e 3 houve diferença apenas para a perna esquerda entre linhagens e para a perna direita entre sexo.

1.2 Análise histológica da cabeça do fêmur – degeneração femoral

Neste estudo foi possível diferenciar todas as zonas constituintes da cartilagem epifisária (Figura 2).

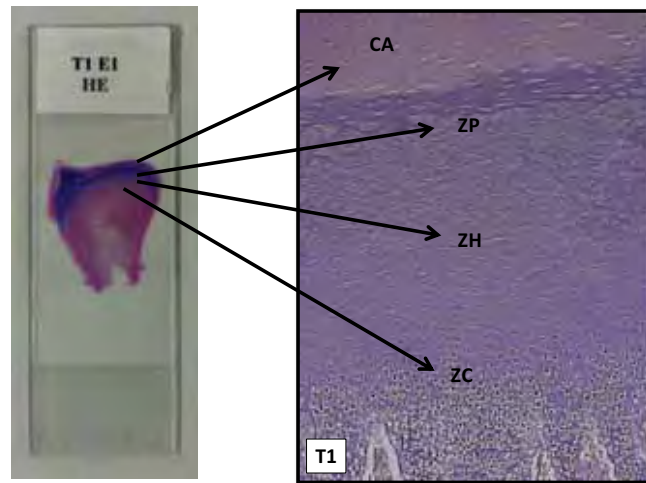


Figura 2. Correlação das zonas da lâmina histológica com a fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) Tratamento 1 (controle), cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X.

Com relação às observações entre os tratamentos 1, 2 e 4, não foi possível observar alterações relacionadas à morfologia das células que compõem cada zona da cartilagem epifisária deste estudo (Figura 3).

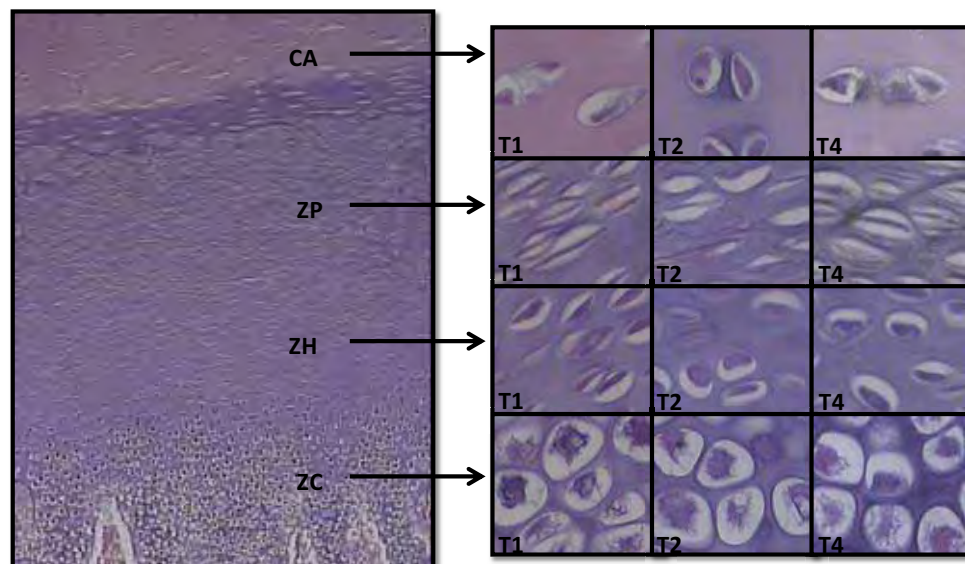


Figura 3. Fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit. D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit. D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X.

Ainda com relação aos animais sem degeneração femoral (escore 1), quando comparou-se os tratamentos 1, 3 e 5 foi possível notar que na zona de proliferação, as células do tratamento 5 apresentaram-se mais globosas e com melhor organização de empilhamento em comparação aos animais submetidos ao tratamento 3 e entretanto, assemelhando-se com a estrutura morfológica dos animais que receberam dieta controle (tratamento 1). Da mesma maneira, na zona hipertrófica, as células dos animais submetidos ao tratamento 5 apresentaram-se mais hipertrofiadas em comparação às células dos animais submetidos aos tratamentos 1 e 3. Por último, na zona de calcificação, houve semelhança morfológica entre os tratamentos 1 e 3. No tratamento 5 foi possível observar as células mais globosas e com menor concentração de material intercelular (Figura 4).

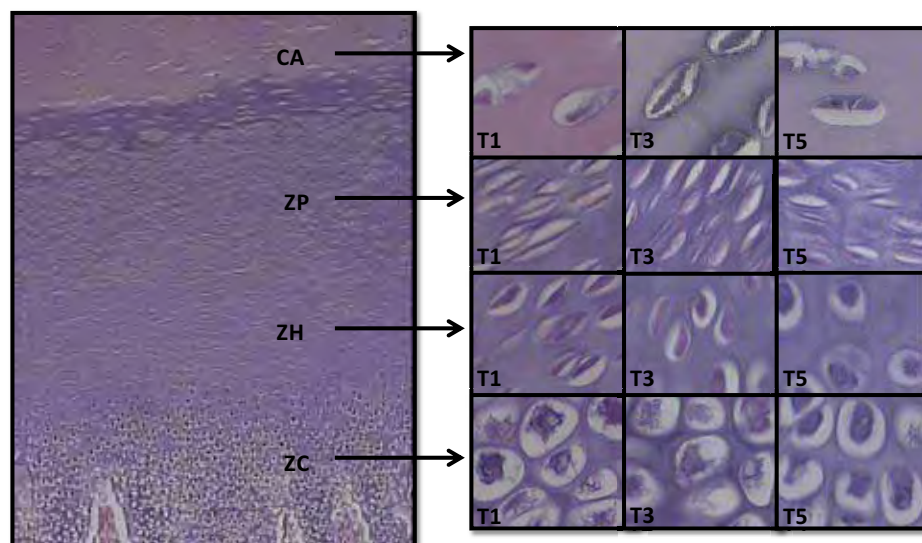


Figura 4. Fotomicrografia do Escore 1 (sem lesão) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T3) Vit. D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit. D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X.

Resultados pertinentes foram encontrados por outros autores, quando Almeida Paz et al. (2009) descreveram que as alterações mais evidentes ocorreram aos 35 e 42 dias de idade, sendo que no escore sem lesão existia uma distinção entre todas as regiões (cartilagem articular, zona de repouso e zona de proliferação), e que na zona de repouso observava-se os núcleos alongados e arranjo celular em fileiras, enquanto que na região de proliferação os núcleos eram centrais e com expansões características. Ainda em estudos realizados por Martins et al. (2011) verificaram no escore 1, sem

lesão, a existência de um mapeamento bem distinto de todas as zonas constituintes da cartilagem epifisária.

No escore 2, lesão inicial, observou-se ausência da cartilagem articular e ainda foi possível visualizar a presença de vasos sanguíneos atingindo a zona de proliferação e de repouso. Resultados semelhantes foram encontrados por Almeida Paz et al. (2009), que observaram para o escore com lesões moderadas, desgaste da cartilagem articular e alteração nas zonas de repouso e de proliferação, além da neoformação de vasos sanguíneos. Esses dados corroboram com os encontrados por Martins et al. (2011) em que relatam para o escore 2 de lesão de degeneração femoral, desgaste da cartilagem de articulação, e existência de alteração nas zonas de repouso e de proliferação, com núcleos hipertrofiados, deslocados e com contornos alterados.

Nas lesões iniciais, a morfologia da zona de proliferação dos tratamentos 2 e 4 mostraram-se muito semelhantes, respeitando um padrão típico dessa região com empilhamento celular, diferindo-se do tratamento 1, controle, o qual não mostrou esse padrão das células proliferativas. A zona hipertrófica não apresentou nenhuma diferença morfológica entre os tratamentos 1, 2 e 4. Enquanto que na zona de calcificação ocorreu tendência do aumento celular para os tratamentos 2 (Figura 5) e 3 (Figura 6), tratamentos com adição do metabólito 25-OHD₃, quando comparados aos tratamentos 1, 4 (Figura 5) e 5 (Figura 6), os quais contiveram somente fonte de vitamina D₃, permitindo inferir que o 25-OHD₃ pode estar levando a melhora morfológica nesse grau de lesão de degeneração femoral.

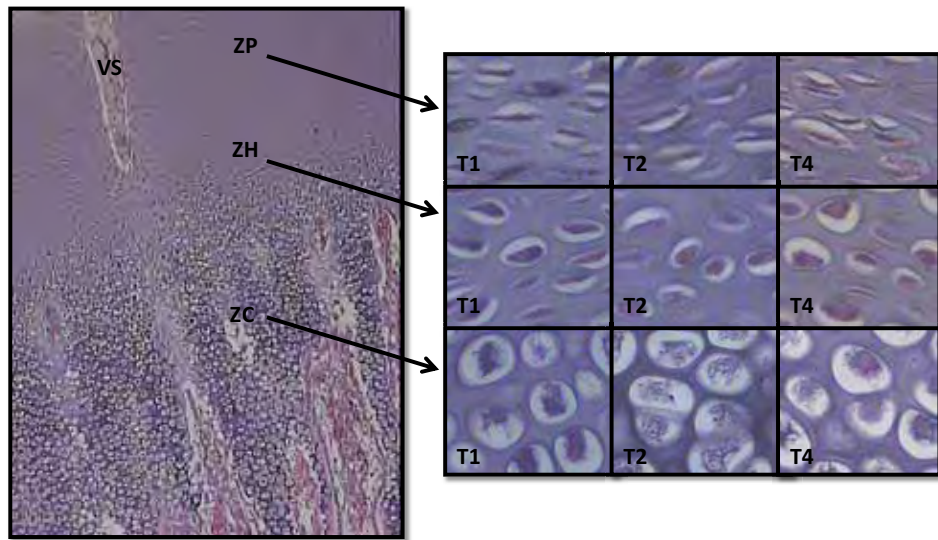


Figura 5. Fotomicrografia do Escore 2 (lesão inicial) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit. D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit. D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X.

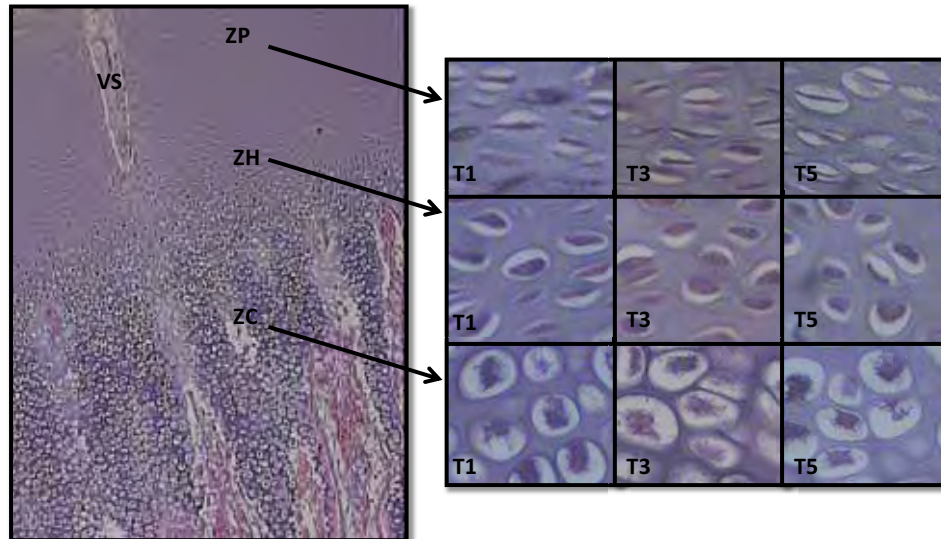


Figura 6. Fotomicrografia do Escore 2 (lesão inicial) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T3) Vit. D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit. D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X.

No escore 3 de degeneração femoral, o qual a lesão se apresenta em seu maior grau de alteração, foi possível observar a ausência da cartilagem articular para todos os tratamentos. Na zona de proliferação tanto as células como o arranjo das mesmas, em

pilhas, mostraram-se melhores no tratamento 2 quando comparado aos tratamentos 1 e 4, o qual se manifestava células com o citoplasma já não tão visível e estando presente apenas os núcleos. Na zona hipertrófica, as características celulares foram mantidas nos tratamentos 1, 2 e 4, ou seja, os núcleos fusiformes deslocados para um dos lados da parede celular, porém no tratamento 2 foi observado aumento da população celular. Na última zona estudada, zona de calcificação, a morfologia das células do tratamento 2 mostrou-se com características dentro do padrão normal em comparação às mesmas células do tratamento 4, no entanto não foi possível verificar diferença morfológica dessas células quando comparados ao tratamento 1 (Figura 7).

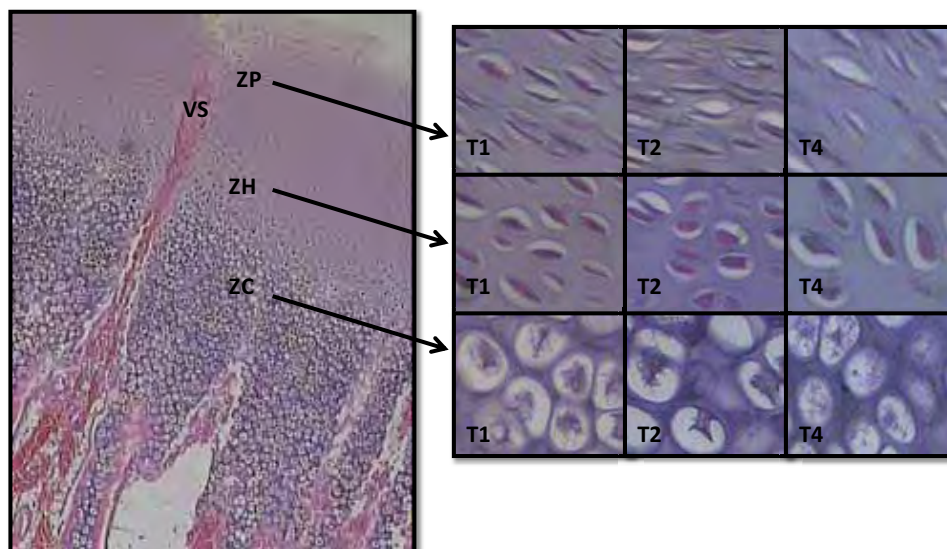


Figura 7. Fotomicrografia do Escore 3 (lesão severa) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1) controle, T2) Vit. D₃ + 1.400 UI de 25-OHD₃ e T4) Vit. D₃ em dosagem média. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC). HE, 10X e 100X.

Neste mesmo escore de lesão, nas zonas de proliferação e hipertrófica foi possível observar melhora em termos de arranjo e morfologia celular do tratamento 3, em comparação aos tratamentos 1 e 5 (Figura 8).

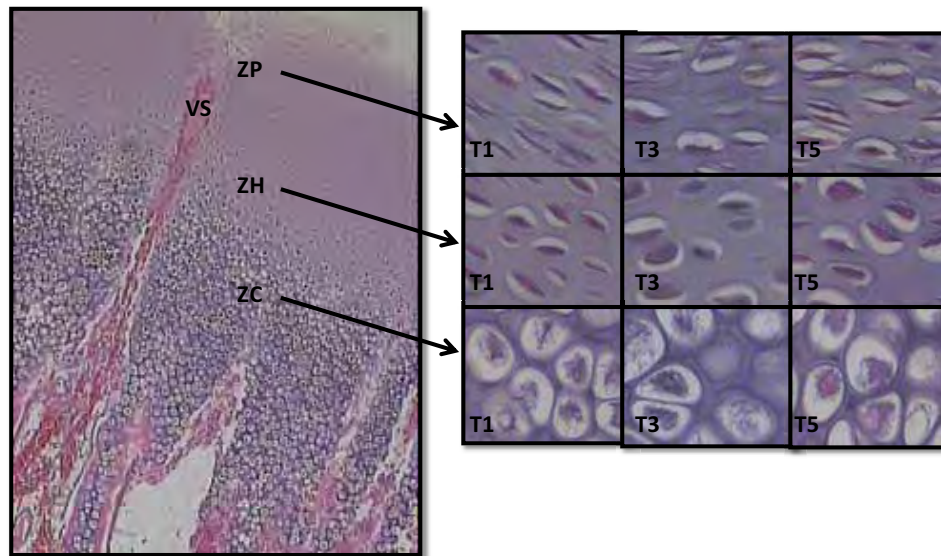


Figura 8. Fotomicrografia do Escore 3 (lesão severa) da cabeça de fêmur de frangos de corte aos 42 dias de idade. Em T1 controle, T3) Vit. D₃ + 2.800 UI de 25-OHD₃ e T5) Vit. D₃ em maior dosagem. Cartilagem articular (CA), zona de proliferação (ZP), zona hipertrófica (ZH), zona de calcificação (ZC), vaso sanguíneo (VS). HE, 10X e 100X.

Estes dados são concordantes aos descritos por Almeida Paz et al. (2009) e Martins et al. (2011), que também observaram para esse grau de lesão de degeneração femoral a ausência da cartilagem articular e colapso no arranjo das células ósseas, que apresentavam seus núcleos rompidos e hipertróficos.

Através das observações morfológicas, foi possível avaliar as respostas ocorridas entre os tratamentos 2 e 4 em comparação aos tratamentos 3 e 5 nos diferentes escores de lesão com o objetivo de estudar qual a melhor dosagem de vitamina D, ou seja, avaliar a melhor resposta dos tratamentos com vitamina D₃ ou dos tratamentos com a combinação das duas fontes.

Os frangos de corte sem lesão de degeneração femoral, escore 1, não apresentaram diferença morfológica nas diferentes zonas que constitui a cartilagem epifisária quando se comparou os tratamentos 2 e 4, formulados com dosagens médias de vitamina D, aos tratamentos 3 e 5, com maiores dosagens (Figura 3 e Figura 4).

No escore 2, em que os frangos de corte apresentaram lesão inicial de degeneração femoral, apesar de ter sido possível observar na zona de proliferação melhor padrão de empilhamento dos condrócitos nos tratamentos 2 e 4 quando comparados aos tratamentos 3 e 5, nas outras zonas não se observaram diferenças quanto à morfologia dessas células (Figura 5 e Figura 6).

No último escore de lesão, o escore 3, embora as células e o arranjo das mesmas sejam melhores no tratamento 2 quando comparado ao tratamento 3, os tratamentos com dosagens médias de vitamina D (2 e 4), apresentaram-se de maneira geral, piores que os tratamentos correspondentes aos de maiores dosagens, tratamentos 3 e 5, o que leva a inferir, que estes últimos apresentaram células mais arredondadas e com maior tamanho, e portanto mais desenvolvidas, o que pode ter propiciado melhor desenvolvimento ósseo (Figura 7 e Figura 8). Em estudos sobre acompanhamento e desenvolvimento de lesões por degeneração femoral em frangos de corte, por Almeida Paz et al. (2009), verificaram aos 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, alterações na integridade e disposição das células da região de repouso e proliferação e de cartilagem de articulação a partir de 21 dias de idade, enquanto que as alterações macroscópicas só puderam ser verificadas a partir de 28 dias de idade. Por outro lado, Martins et al. (2011), em seu trabalho, concluíram que a frequência de degeneração femoral para as diferentes linhagens e sexo foi baixa, sendo que o escore macroscópico de degeneração femoral foi compatível com o escore histológico.

De acordo com os resultados de macroscopia e histopatologia para degeneração femoral pode-se inferir que os tratamentos 2 e 3, com a associação de vitamina D₃ e 25-OHD₃, apresentaram melhores respostas e por outro lado, foi possível verificar coerência na severidade de escore macroscópico e histopatológico dentro de cada tratamento estudado.

2. ANÁLISE MACROSCÓPICA DA TÍBIA – DISCONDROPLASIA TIBIAL

Não foi possível observar lesão por discondroplasia tibial (DT), a qual é baseada no acúmulo e espessamento de cartilagem na região da placa de crescimento da epífise proximal da tíbia, nos frangos de corte machos aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D₃ e a combinação entre as duas fontes (D₃ + 25-OHD₃), já que não ocorreu caso nos ossos analisados (Figura 9).



Figura 9. Fotografia da tíbia de frango de corte aos 42 dias de idade.

3. AVALIAÇÃO DA LOCOMOÇÃO – *gait score*

A variável *gait score* apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) para o tratamento 2 com relação aos tratamentos 1 e 5, pode-se observar que essa diferença foi influenciada pelo escore 3 em frangos de corte avaliados aos 42 dias de idade (Tabela 2).

Tabela 2. *Gait score* encontrados em frangos de corte aos 42 dias de idade suplementados com vitamina D₃ e a sua associação com 25-OHD₃.

TRAT*	<i>gait score</i> (%)		
	1	2	3
1	78	20	2
2	70	19	11
3	81	17	5
4	80	16	4
5	83	16	1

* O tratamento 2 diferiu do 1 e 5 pelo Teste de Quiquadrado ($p < 0,05$).

Foi possível observar diferença ($p < 0,05$) para o tratamento 2 em relação aos tratamentos 1 e 5, ocorrendo maior incidência para o escore 3, porém não se pode afirmar que o tratamento 2 tenha levado a esse resultado, já que este possui o metabólito 25-OHD₃ em dosagem média e portanto não é prejudicial às aves. Além disso, alguns autores como, Garner et al. (2002) e Weeks et al. (2000), relatam que o *gait score*, é uma metodologia empírica e imprecisa para a avaliação do andar das aves, já que é utilizado a campo como avaliação do bem-estar.

De acordo com Fernandes et al. (2012), com relação ao *gait score* e a degeneração femoral (DF), observaram que no *gait score* 0 (ave que caminha normalmente) a incidência de aves para DF foi maior aos 35 e 42 dias de idade. Porém isso não ocorreu para o *gait score* 1 e 2, ou seja, nem sempre uma ave que tem dificuldades para caminhar apresenta maior escore de DF (lesão grave). Estes dados indicam que nem sempre existe uma boa correlação entre essas medidas.

4. AVALIAÇÃO DE DEFORMIDADES *valgus* e *varus*

A variável *valgus* apresentou diferença ($p < 0,05$) para o tratamento 5 em relação aos demais para a perna esquerda. Esta diferença está intimamente ligada aos graus de angulações 0 e 10, deste tratamento. Já para a perna direita não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos estudados (Tabela 3).

Tabela 3. Deformidade *valgus*, com diferentes angulações, encontrados em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D₃ e a associação entre as duas fontes (D₃ + 25-OHD₃).

TRAT	VALGUS (perna esquerda)* (%)				VALGUS (perna direita) (%)			
	0	5°	10°	15°	0	5°	10°	15°
1	22	40	35	3	58	37	5	0
2	23	50	25	2	61	36	2	1
3	24	47	25	4	58	38	3	1
4	22	35	36	7	50	43	7	0
5	5	47	42	6	44	49	6	1

*O tratamento 5 diferiu dos demais pelo Teste de Quiquadrado para a variável *valgus* da perna esquerda ($p < 0,05$).

Foi possível observar que o tratamento 5 apresentou maiores incidências de deformidade *valgus* para a perna esquerda quando comparados aos outros tratamentos, apenas 5% das aves não apresentaram a deformidade. Por outro lado não se pode afirmar que o tratamento tenha levado a esse resultado, já que para a perna direita, não ocorreu o mesmo e 44% das aves apresentaram-se sem esta deformidade.

Ainda para problemas de desvios de articulações *valgus*, observaram-se maiores incidências de frangos de corte sem esta deformidade para a perna direita, nessas condições, levando a inferir que esta seria uma deformidade uni-lateral.

Para o desvio de articulação *varus*, não foi possível verificar diferença ($p>0,05$) pelo Teste de Quiquadrado (Tabela 4).

Tabela 4. Deformidade *varus*, com diferentes angulações, encontrados em frangos de corte aos 42 dias de idade submetidos aos tratamentos com vitamina D₃ e a associação entre as duas fontes (D₃ + 25-OHD₃).

TRAT	VARUS (perna esquerda)* (%)				VARUS (perna direita)* (%)			
	0	5°	10°	15°	0	5°	10°	15°
1	99	1	0	0	99	0	0	1
2	100	0	0	0	100	0	0	0
3	99	1	0	0	100	0	0	0
4	98	1	1	0	99	1	0	0
5	99	0	1	0	99	1	0	0

* ($p>0,05$).

Com relação à avaliação de deformidade *varus* na perna direita, foi possível observar nos tratamentos 1, 4 e 5 baixa porcentagem, apenas 1%, das aves apresentaram essa deformidade, enquanto que nos tratamentos 2 e 3 (constituídos pela associação da vitamina D₃ e 25-OHD₃) não foi encontrada nenhuma variação. Resultados semelhantes foram observados para a perna esquerda quanto à deformidade *varus*, os tratamentos 1, 3 e 5 apresentaram 1% dos frangos de corte analisados com deformidade, o tratamento 4 apresentou 2% das aves com desvios de articulações e apenas o tratamento 2 não apresentou a deformidade *varus*.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Fernandes et al. (2012) que não detectaram a deformidade *varus*, porém encontraram diferença para a deformidade *valgus* somente também para a perna esquerda, porém em relação à idade,

sendo o maior desvio verificado aos 42 dias. Para os diferentes graus de *gait score* encontraram diferença para a perna direita e esquerda, sendo o maior desvio de articulação relacionado ao *gait score 2* (ave com dificuldades para caminhar), indicando que essa deformidade pode estar relacionada com as características *gait score* e idade. Sanotra et al. (2001) em estudo semelhante, também observaram correlação positiva entre *gait score* e a deformidade *valgus*.

CONCLUSÃO

Com a suplementação da vitamina D, em diferentes fontes, os frangos de corte machos não apresentaram índices de discondroplasia tibial aos 42 dias de idade. E ainda os animais submetidos aos tratamentos com a combinação de vitamina D₃ e 25-OHD₃, nos escores iniciais e mais severos de degeneração femoral, mostraram histopatologicamente melhor arranjo celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA PAZ, I.C.L. Problemas locomotores e técnicas de mensuração. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2008, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2008. p.57-68.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Caracterização da degeneração femoral em frangos de corte por meio da densidade mineral óssea. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2007, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2007. p.1.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Follow-up of the development of femoral degeneration lesions in broilers. **International Journal of Morphology**, v.27, n.2, p.571-575, 2009.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Selecting appropriate bedding to reduce locomotion problems in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.189-195, 2010.
- BRITO, J.A.G. **Vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD₃) em rações de frangos de corte**. 2008. 120f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2008.

- FERNANDES, B.C.S. et al. Problemas locomotores em frangos de corte e sua relação com *Gait Score*” **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.8, p.1951-1955, 2012.
- GARNER, J.P. et al. Reliability and validity of a modified gait scoring system and its use in assessing tibial dyschondroplasia in broilers. **British Poultry Science**, v.43, n.3, p.355-363, 2002.
- JULIAN, R.J. Patologias ósseas em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. p.107-122.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Texto/Atlas. 11. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2008. 524p.
- MARTINS, B.B. et al. Caracterização histológica da degeneração femoral de frangos de corte. In: XXII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 2011, Argentina. **Anais...** XXII Congresso Latino Americano de Avicultura, Buenos Aires, Argentina, 2011.
- MINITAB® Statistical Software [computer program], version 16. State College, PA: **Minitab Inc**, 2010.
- NÄÄS I.A. et al. Impact of lameness on broiler well-being. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.432-439, 2009.
- NÄÄS, I.A. et al. Assessing locomotion deficiency in broiler chicken. **Scientia Agricola**, v.67, p.129-135, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9. ed. Washington: National Academic Science, 1994. 155p.
- PAIXÃO, T.A. et al. Espondilolistese em frangos de corte no Brasil. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.523-526, 2007.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2011. 252p.
- SANOTRA, G.S. et al. Monitoring leg problems in broilers: a survey of commercial broiler production in Denmark. **World's Poultry Science Journal**, v.57, p.55-69, 2001.
- SULLIVAN, T.W. Skeletal problems in poultry: Estimated annual cost and description. **Poultry Science**, v.73, n.6, p.879-882, 1994.
- UBABEF – União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2012. Disponível em:<<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=3293>> Acesso em: 30 Jan. 2013

WEEKS, C.A. et al. The behavior of broiler chickens and its modification by lameness.
Applied Animal Behavior Science, v.67, n.1-2, p.111-125, 2000.

CAPÍTULO 4

QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI- COLECALCIFEROL)

**QUALIDADE ÓSSEA EM FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM
VITAMINA D₃ (COLECALCIFEROL) E 25-OHD₃ (25-HIDROXI-
COLECALCIFEROL)**

RESUMO – Foram alojados em aviário experimental da FMVZ-UNESP/Botucatu 750 frangos de corte, machos, da linhagem Cobb®, com densidade populacional de 12 aves/m², por 42 dias com o objetivo de avaliar as características ósseas em frangos suplementados com vitamina D na ração. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições de 30 aves, totalizando 25 parcelas experimentais. Os tratamentos foram constituídos por duas fontes de suplementação de vitamina D (vitamina D₃ e 25-OHD₃). O tratamento 1, controle, seguiu as recomendações de Rostagno et al. (2011) para a vitamina D₃, de acordo com cada fase de criação para frangos de corte. O tratamento 2 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 1.400 UI de 25-OHD₃; o tratamento 3 foi constituído de vitamina D₃ (mesma dosagem do tratamento controle) + 2.800 UI de 25-OHD₃; o tratamento 4 e o tratamento 5 foram constituídos apenas de vitamina D₃ e, seus valores foram baseados na soma das doses em UI das duas fontes de vitamina D do tratamento 2 e do tratamento 3, respectivamente. Aos 42 dias, 60 aves de cada tratamento foram abatidas e posteriormente foi analisada macroscopicamente a cabeça dos fêmures para determinação dos escores de degeneração femoral (DF). Para as avaliações de densidade mineral óssea, Índice Seedor, resistência óssea, matéria seca desengordurada, cinzas e teores de cálcio e fósforo nos ossos, foram selecionados três aves de cada escore de DF por tratamento. Não foi possível verificar diferença pelo Teste de Quiquadrado ($p>0,05$) para as avaliações de qualidade óssea com a utilização da vitamina D₃ e a sua combinação com 25-OHD₃.

Palavras-chave: osso, cálcio, fósforo, densidade mineral, aves.

**BONE QUALITY OF BROILER CHICKENS SUPPLEMENTED WITH
VITAMIN D₃ (CHOLECALCIFEROL) AND 25-OHD₃ (25-HYDROXY-
CHOLECALCIFEROL)**

ABSTRACT - The experiment was carried out in the experimental aviary of FMVZ-UNESP/Botucatu with the aim of evaluating the bone characteristics of Cobb® male broiler chickens at 42 days old receiving diets supplemented with different sources of vitamin D. Birds were distributed in a completely randomized design with five treatments and five repetitions of 30 birds each, totalizing 25 experimental parcels. The first treatment (T1- control) followed the recommendations of Rostagno et al. (2011) for vitamin D₃ according to each life stage of broiler chickens. Treatment 2 was the combination of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 1,400 UI of 25-OHD₃; treatment 3 was consisted of vitamin D₃ (the same level of control treatment) and 2,800 UI of 25-OHD₃; treatment 4 and 5 were consisted of only vitamin D₃ and the levels were based on the sum of levels from the two sources of vitamin D₃ of treatment 2 and 3, respectively. Femoral head of 60 broilers per treatment were macroscopically analyzed after the slaughter. Three birds of each DF score per treatment were used to evaluate the mineral density, Seedor Index, bone resistance, fat-free dry matter, ash percentage and calcium and phosphorus in bones. Significant differences were not observed in bone quality of broilers receiving vitamin D₃ isolated or in association with 25-OHD₃ through Chi-Square Test (P>0.05).

Key words: bone, calcium, phosphorus, mineral density, birds

INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado destaque no mercado mundial devido ao grande crescimento da sua avicultura, trazendo bons rendimentos para os produtores avícolas. A grande pressão de seleção genética, manejo adequado e nutrição com rações de alta qualidade permitem bons resultados zootécnicos. Porém, alguns distúrbios metabólicos decorrentes desta evolução genética, do manejo e nutrição surgiram nas aves (ALMEIDA PAZ et al., 2010).

De acordo com Cook (2000), estimava-se que nos EUA ocorria perda em torno de 3,2% na produção avícola devido à má formação esquelética. A falta de uma terminologia padronizada para descrever corretamente as diferentes anomalias locomotoras, contribui negativamente para a correta quantificação dos prejuízos. A dificuldade na contabilização dos prejuízos se prende também ao fato de muitos sintomas decorrentes das anormalidades ósseas não serem clinicamente visíveis (TARDIN, 1995).

O melhoramento genético de aves destinadas à produção de carne, associado aos avanços tecnológicos, ao manejo, à nutrição e sanidade vem proporcionando maior velocidade de crescimento em menor intervalo de tempo. Devido a esses fatores e a seleção para a característica de ganho de peso, principalmente massa muscular com pouca gordura, tem colocado demandas crescentes sobre o sistema ósseo (NICOLAU, 1996). Diante disso, tem-se observado acentuado aumento no aparecimento de anormalidades de pernas em aves de corte, ocasionando sérios prejuízos zootécnicos e na qualidade das carcaças.

Durante as últimas décadas, o foco de interesse dos nutricionistas, em relação à esses problemas, gerou séries de estudos, entre as quais se destacam artigos sobre o efeito da vitamina D, do cálcio, fósforo, cloro, zinco, manganês, cobre, das vitaminas A e C, da piridoxina, colina, do ácido fólico, da niacina, metionina, cistina, cisteína e homocisteína (COOK, 2000).

Sobre a vitamina D, especificamente, há uma diversidade de trabalhos que buscam associar a sua suplementação com a incidência de problemas ósseos e o desenvolvimento esquelético das aves (BRITO, 2008). Diretamente associada a absorção de cálcio e fósforo, a vitamina D, na sua forma ativa, pode influenciar o aparecimento de anomalias ósseas (PIZAURO JR et al., 2002).

A vitamina D₃ exerce inúmeras funções no metabolismo animal e, dentre elas, a de principal interesse é a regulação metabólica do cálcio e fósforo e a absorção intestinal desses minerais (ALBERS et al., 2002).

Muitos estudos sobre problemas locomotores são encontrados com suplementação da vitamina D₃ na dieta, embora sejam escassos estudos relacionados à densitometria óssea em aves destinadas à corte. Devido a isso, acredita-se que a vitamina D, possa trazer benefícios aos ossos dessas aves, com a função de fortalecer e reduzir problemas ósseos.

Heterogêneo e complexo, o osso é um tecido constituído por células em vários estágios de diferenciação, com quatro funções principais, suportar a musculatura, auxiliar a movimentação, promover o crescimento do animal e servir como reserva mineral, que pode ser acessada durante distúrbios na homeostase mineral (MACARI et al., 2002). A rigidez do tecido ósseo é resultante da deposição de cálcio e fósforo, na forma de hidroxiapatita, durante o processo de mineralização óssea. Esses dois minerais perfazem cerca de 70% da composição óssea, os 30% restantes são compostos de matéria orgânica, principalmente colágeno (KÄLEBO & STRID, 1988; BRUNO, 2002).

Em um estudo realizado por Onyango et al. (2003) os autores avaliaram a densitometria óssea como indicador de porcentagem de cinzas ósseas de tíbias de frangos de corte, para isso utilizaram dietas contendo vários níveis de cálcio e fósforo, concluindo que o melhor indicador de cinzas óssea é a resistência óssea e que a densidade mineral óssea tem correlação de 86% com a porcentagem de cinzas, sendo também um bom indicador.

A densidade mineral óssea pode, ainda, ser medida através de técnicas como a composição mineral óssea, resistência óssea à quebra, Índice Seedor, entre outras. Algumas doenças como osteoporose, osteopenia e osteocondrose foram estudadas utilizando técnicas de mensurações da densitometria óssea em cães, coelhos, bovinos, equinos e também em humanos (LOUZADA et al., 1990; GARTON et al., 1994; JEFFCOTT & HENSON, 1998; BOURRIN et al., 2002; HUANG et al., 2002; KASTL et al., 2002), porém poucos são os estudos realizados em aves.

Sendo assim, objetivou-se com este estudo, analisar as características ósseas em frangos de corte suplementados com vitamina D₃ (colecalfiferol) e a sua associação

com 25-OHD₃ (25-hidroxi-colecalciferol) na dieta utilizando técnicas modernas, como a densidade mineral óptica por tomografia computadorizada, cinzas ósseas, quantificação dos teores de cálcio e fósforo, resistência óssea e Índice Seedor.

MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental e os tratamentos utilizados foram os mesmos descritos no Capítulo 2.

Aos 42 dias, 60 frangos de corte de cada tratamento foram pesados, insensibilizados por eletronarcole e eutanasiados mediante corte da veia jugular e artéria carótida. Posteriormente tiveram a cabeça do fêmur de ambas as pernas analisadas macroscopicamente, para avaliação do escore de lesão por degeneração femoral (DF) e atribuídos escores variando entre 1 e 3. Sendo que o escore 1 equivale a uma peça sem lesão, o escore 2 equivale a uma peça com lesão inicial, no qual se pode verificar que a cartilagem articular não está presente revestindo o osso, podendo, ou não, ser encontrada no acetábulo e o escore 3 equivale a uma peça com lesão severa, onde não existe mais contorno evidente da cabeça do fêmur (ALMEIDA PAZ et al., 2008).

Foram selecionados três frangos de corte, dentro de cada escore macroscópico de DF por tratamento para a realização das análises ósseas.

1. CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS

1.1 Densidade mineral óssea

Foram realizadas análises de densidade mineral óssea (DMO) do fêmur dos frangos de corte aos 42 dias de idade, sendo os seus valores associados ao exame macroscópico de DF e ao desempenho das aves.

Desta forma, foi possível selecionar três frangos de corte, dentro de cada escore macroscópico de DF por tratamento e, posteriormente, realizar a análise de DMO. As pernas selecionadas foram levadas, ao Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP-Botucatu para a realização das coletas tomográficas. Para obtenção das imagens tomográficas

foram utilizados procedimentos de rotina. As amostras tomografadas e as leituras densitométricas foram realizadas após a digitalização das imagens. Um programa computacional, ClearCanvas Workstation 2.0, reconheceu as imagens e com auxílio do mouse foi determinada uma área de $0,405 \text{ cm}^2$ da região da cabeça do fêmur para a leitura dos dados. Determinada a região, o programa procedeu às leituras, fornecendo os valores de densidade óptica e expressado em unidade Hounsfield (HU), segundo metodologia descrita inicialmente por Martínéz Cummer et al. (2006) e adaptada por Almeida Paz et al. (2008). Os valores de densidade óssea obtidos foram armazenados no microcomputador e processados para análises pertinentes referentes à densidade mineral óssea (Figura 1).

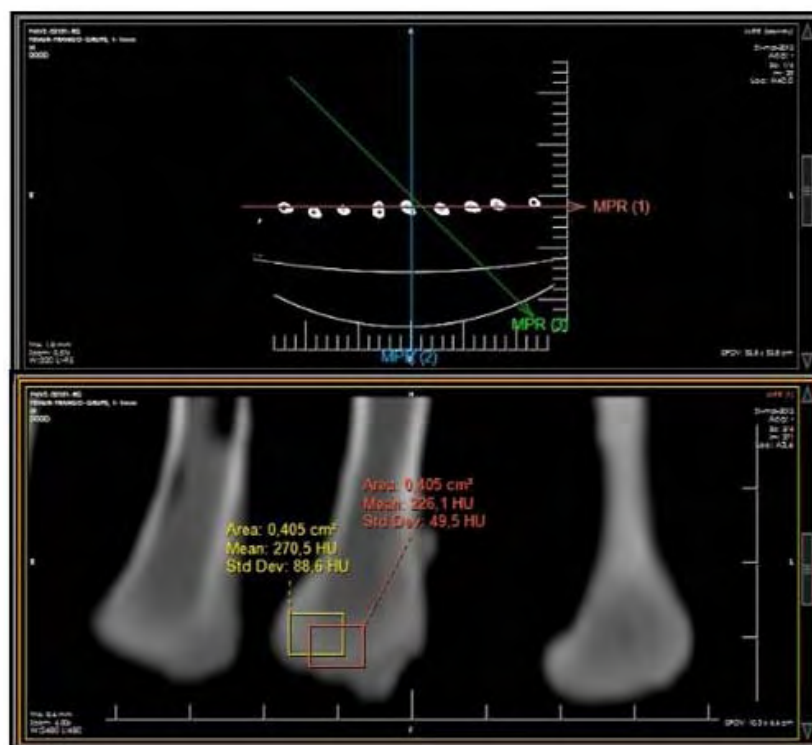


Figura 1. Fotografia da imagem óssea utilizada para o cálculo da densidade mineral óssea do fêmur, com $0,405 \text{ cm}^2$ de área para leitura no Programa ClearCanvas Workstation 2.0.

1.2 Índice Seedor

O Índice Seedor é o valor obtido ao se dividir o peso do osso por seu comprimento, conforme proposto inicialmente por Seedor (1995), e serve como indicativo de densidade óssea, sendo que quanto maior o valor mais denso é o osso. Para a realização desta avaliação, os ossos que foram avaliados quanto à densidade

mineral óssea foram medidos em seu maior comprimento, com o auxílio de um paquímetro digital e tiveram o seu peso úmido obtido em uma balança analítica digital com precisão de 0,0001g.

1.3 Resistência óssea

Para a realização da análise de resistência óssea, os ossos foram desengordurados em éter etílico por 24 horas. Depois de desengordurados os ossos foram levados ao Laboratório de Bromatologia da FMVZ/UNESP, Campus de Botucatu, onde a análise foi realizada utilizando-se um texturômetro Stable Micro System, que foi regulado para permitir que o vão livre da diáfise fosse de 3cm e velocidade de 1mm/segundo. Um programa computacional registrou a força necessária para que ocorresse a quebra total do osso. Os valores foram expressos em quilograma força (Figura 2).



Figura 2. Fotografia da peça óssea no momento da execução da análise de resistência, com vão livre de 3cm.

1.4 Matéria seca desengordurada

Esta análise foi realizada nos ossos submetidos à análise de resistência óssea. A obtenção da porcentagem de matéria seca desengordurada foi realizada pesando-se os ossos em balança analítica digital com precisão de 0,0001g. Após este procedimento, os ossos foram secos por 72 horas em estufa a 60°C, retirados da estufa e colocados em

dessecadores para que atingissem temperatura ambiente e posteriormente foram pesados novamente. A diferença entre o peso do osso antes de ser submetido à estufa e após este processo corresponde ao teor de matéria seca desengordurada, expresso em porcentagem, conforme metodologia descrita por Kim et al. (2004).

1.5 Cinzas e teores de cálcio e fósforo

A análise de cinzas dos ossos foi realizada no Laboratório de Bromatologia da FMVZ/UNESP, Campus de Botucatu utilizando-se os ossos submetidos à análise de matéria seca desengordurada. Esses ossos foram moídos em moinho de bola e as amostras colocadas em uma estufa a 60°C por 10 horas. Posteriormente foram calcinados em mufla a 800°C por 2 horas, obtendo-se assim o teor de cinzas das amostras, conforme metodologia descrita por Rath et al. (1999).

No Laboratório de Química do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, foi determinado os teores de cálcio e fósforo dos ossos em que foram realizadas as cinzas ósseas. Para isso, foram pesados aproximadamente 0,1g de amostra calcinada utilizada no preparo da solução mineral aquosa, contendo 5mL de solução de ácido clorídrico (1:1), a fim de solubilizar os minerais presentes nas amostras. O extrato ácido resultante foi transferido para balões volumétricos de 25mL e os volumes foram acertados com água deionizada. Posteriormente as amostras foram diluídas 1000x. As determinações de cálcio foram realizadas por espectrometria de absorção atômica utilizando-se equipamento da Shimadzu AA-6800 e as condições descritas no manual do fabricante (Marckzenko, 1976). Por fim a leitura de fósforo das amostras foi determinada por colorimetria.

2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram analisados pelo *Software* Estatístico Minitab 16 (MINITAB, 2010). As variáveis com dados em porcentagem (densidade mineral óssea, Índice Seedor, resistência óssea, matéria seca desengordurada, cinzas e teores de cálcio e fósforo) foram transformadas pela expressão $\sqrt{x + 0,5}$ e posteriormente avaliada a normalidade. Os dados considerados normais foram analisados pela análise de variância, sendo complementados pelo Teste Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PARÂMETROS DE TECIDO ÓSSEO

Não foi possível verificar diferença pelo Teste de Quiquadrado ($p>0,05$) para as avaliações de qualidade óssea (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de Índice Seedor, matéria seca desengordurada, resistência óssea, densidade mineral óssea, cinzas, cálcio e fósforo.

Características	Tratamentos*				
	1	2	3	4	5
Índice Seedor	17,32	18,15	18,92	17,18	18,50
CV (%)	9,01	8,85	8,15	9,64	3,78
MSd (%)	68,10	68,22	68,07	69,03	66,65
CV (%)	9,11	6,02	1,72	3,65	6,45
Resistência Óssea (kgf)	30,34	33,50	30,19	30,24	28,57
CV (%)	21,55	23,09	16,11	23,49	10,39
DMO (HU)	231,22	245,98	238,84	238,90	249,81
CV (%)	10,76	12,11	14,97	23,98	17,98
Cinzas (%)	32,83	34,11	32,97	33,21	33,82
CV (%)	6,36	7,14	5,14	8,51	5,17
Cálcio (%)	35,74	35,76	35,92	36,16	36,37
CV (%)	6,33	5,97	5,31	3,93	2,64
Fósforo (%)	32,62	32,13	32,52	31,60	32,52
CV (%)	3,50	2,58	5,11	5,21	7,53

* $p>0,05$. Coeficiente de variação (CV); matéria seca desengordurada (MSd); densidade mineral óssea (DMO).

Para o Índice Seedor foi encontrado valor médio de 18,01, o que diferiu dos valores de 11,88 para fêmures encontrados por Almeida Paz (2006). Por outro lado em estudos realizados por Bruno (2002) estes valores variaram entre 15,95 a 70,24, sendo que os valores encontrados neste estudo se encaixam dentro desta faixa. O crescimento

dos ossos longos é regulado por interações entre o potencial genético, fatores ambientais e nutrição (WATKINS, 1993). Entretanto, foi observado neste trabalho que o aumento da dosagem de vitamina D, independente da fonte utilizada, vitamina D₃ ou a sua associação com 25-OHD₃, não foi um fator determinante para afetar o crescimento, peso e, portanto o Índice Seedor dos fêmures das aves analisadas.

Já para o parâmetro de resistência óssea, os valores encontrados estão pouco acima dos relatados na literatura. Alguns autores relataram valores de resistência óssea variando entre 9,51 e 20,31 kgf para fêmures (LOTT et al., 1980; ORBAN et al., 1993; BRUNO, 2002). No entanto, Almeida Paz (2006), também encontrou valores altos, em torno de 24,03 kgf para fêmures aos 42 dias de idade.

Os animais submetidos aos tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5 tiveram média de peso vivo em torno de 2,66, 2,74, 2,62, 2,61 e 2,62kg, respectivamente e, em geral, os parâmetros de Índice Seedor e resistência óssea têm relação com o peso dos frangos vivos, quanto mais pesado o animal, maiores são os valores destes parâmetros de avaliação.

Os tratamentos utilizados não influenciaram o parâmetro de DMO, porém em estudos realizados por Almeida Paz (2006) sobre características de qualidade óssea de frangos de corte normais e com necrose de cabeça de fêmur, foi verificado que a DMO e Índice Seedor diferiram com relação ao sexo independente da linhagem.

Para a avaliação de cinzas ósseas pode-se observar neste estudo valor médio de 33,39%, valor menor em comparação a Almeida Paz (2006), que encontrou valores de cinzas em torno de 45%.

Com relação aos teores de cálcio, os valores encontrados no presente estudo estão de acordo com Field (2000), que descreveu que o teor de cálcio corresponde a 37% dos minerais nas cinzas (Tabela 1). Entretanto, estes dados diferem de Almeida Paz (2006) que encontrou valores de 28,40% para cálcio e 23,36% para fósforo em fêmures de frangos de corte também aos 42 dias de idade. Segundo Junqueira & Carneiro (2008) o cálcio e fósforo são os minerais que estão em maior quantidade nos ossos.

Houve correlação positiva entre a variável matéria seca desengordurada e densidade mineral óssea com Índice Seedor, e ainda da resistência óssea com cinzas (Tabela 2).

Tabela 2. Correlações entre as características ósseas.

	Índice Seedor	MSd	Resist. Óssea	DMO	Cinzas	Cálcio	Fósforo
Índice Seedor	1,00						
MSd	-	1,00					
Resist. Óssea	0,23	0,22	1,00				
DMO	-	-0,08	0,24	1,00			
Cinzas	-0,06	-0,02	-	0,27	1,00		
Cálcio	-0,05	-0,08	-0,09	0,05	-0,03	1,00	
Fósforo	-0,05	-0,14	-0,20	0,06	0,02	0,06	1,00

Correlações de Pearson a 5% de significância.

MSd = porcentagem de matéria seca desengordurada; Resist. Óssea = resistência óssea; DMO = densidade mineral óssea; Cinzas = porcentagem de cinzas ósseas; Ca = porcentagem de cálcio ósseo; P = porcentagem de fósforo ósseo.

As correlações que não apresentaram-se significativas não são citadas, sendo representadas por “-“.

Em estudo realizado sobre acompanhamento do desenvolvimento do tecido ósseo de matrizes pesadas, Almeida Paz (2006) descreve as mesmas correlações encontradas neste estudo. Ainda em outro estudo Rath et al. (1999) relata que o conteúdo de cinzas ósseas que expressa o teor de mineral no osso está diretamente relacionada à resistência óssea, o que pôde ser constatado neste estudo.

CONCLUSÃO

A utilização da vitamina D₃ e a sua associação com 25-OHD₃ não influenciou a qualidade óssea em frangos de corte machos aos 42 dias de idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERS, N. et al. **Vitamins in Animal Nutrition**. Bonn: AWT, 2002. 77 p.

ALMEIDA PAZ, I.C.L. **Acompanhamento do desenvolvimento do tecido ósseo de matrizes pesadas por meio da técnica de densitometria óptica em imagens radiográficas, qualidade óssea e produção de ovos**. 2006. 100f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu, 2006.

- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Quality parameters of the tibiae and femora of ostriches. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, p.163-167, 2008.
- ALMEIDA PAZ, I.C.L. et al. Selecting appropriate bedding to reduce locomotion problems in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, p.189-195, 2010.
- BOURRIN, S. et al. Recovery of proximal tibia bone mineral density and strength, but not cancellous bone architecture, after long-term bisphosphonate or selective estrogen receptor modulator therapy in aged rats. **Bone**, v.30, n.1, p.195-200, 2002.
- BRITO, J.A.G. **Vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol (25-OHD₃) em rações de frangos de corte**. 2008. 120f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2008.
- BRUNO, L.D.G. **Desenvolvimento ósseo em frangos de corte: Influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente**. 2002. 72f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de Paulista, UNESP, Jaboticabal, 2002.
- COOK, M.E. Skeletal deformities and their causes: Introduction. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.982-984, 2000.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone moistures. **Meat Science**, v.55, p.255-264, 2000.
- GARTON, M.J.; ROBERTSON, E.M.; GILBERT, F.J. Can Radiologists detect osteopenia on plain radiographs? **Clinical Radiology**, v.49, p.118-122, 1994.
- HUANG, T.H. et al. Effects of caffeine and exercise on the development of bone: a densitometric and histomorphometric study in young wistar rats. **Bone**, v.30, n.1, p.293-299, 2002.
- JEFFCOTT, L.B.; HENSON, M.D. Studies on growth cartilage in the horse and their application to an etiopathogenesis of dyschondroplasia osteochondrosis. **The Veterinary Journal**, v.156, p.177-192, 1998.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Texto/Atlas. 11. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2008. 524p.
- KÄLEBO, P., STRID, K.G. Bone mass determination from icroradiographs by computer-assisted videodensitometry. **Acta Radiologica**, v.29, n.4, p.465-472, 1988.
- KASTL, S. et al. Accuracy and precision of bone mineral density and bone mineral content in excised rat humeri using fan beam dual-energy x-ray absorptiometry. **Bone**, v.30, n.1, p.243-246, 2002..

- KIM, W.K. et al. Effects of Different Bone Preparation Methods (Fresh, Dry, and Fat-Free Dry) on Bone Parameters and the Correlations Between Bone Breaking Strength and the Other Bone Parameters. **Poultry Science**, v.83, p.1663-1666, 2004.
- LOTT, B.D.; REECE, F.N.; DROTT, J.H. Effect of preconditioning on bone breaking strenght. **Poultry Science**, v.59, n.4, p.724-25, 1980
- LOUZADA, M.J.Q. et al.. Ação da calcitonina na resolução de perfurações ósseas em coelhos: controle fotodensitométrico e histológico. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.30, n.4, p.111-116, 1990.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 375p.
- MARCKZENKO, Z. **Spectrophotometric Determination of Elements**. Chichester: Ellis Horwood Ltd., 1976. 549p.
- MARTINÉZ CUMMER, M.A.; HECK, R.; LEESON, L. Use of Axial X-Ray Microcomputed Tomography to Assess Three-Dimensional Trabecular Microarchitecture and Bone Mineral Density in Single Comb White Leghorn Hens. **Poultry Science**, v.85, p.706-711, 2006.
- MINITAB® Statistical Software [computer program], version 16. State College, PA: **Minitab Inc**, 2010.
- NICOLAU, J.A. Custo de transação e cooperação vertical na indústria de frango. **Caderno de Ciência & Tecnologia**, v.13, n.1, p.57-65, 1996.
- ONYANGO, E.M. et al. Bone densitometry as am indicator of tibia ash in broiler chickens fed varying dietary calcium and phosphorus levels. **Poultry Science**, v.82, p.1787-1797, 2003.
- ORBAN, J.I.; ROLAND, S.R.; BRYAN, T.M.M. Factors influencing bone mineral content, density, breaking streng, and ash as response criteria for assessing bone quality in chickens. **Poultry Science**, v.72, n.3, p.437-456, 1993.
- PIZAURO JUNIOR, J.M.; CIACAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: Mecanismos de lesão e controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.169-185, 2002.
- RATH, N.C. et al. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven-and seventy-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, n.8, p.1232-1239, 1999.
- ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2011. 252p.

SEEDOR, J.G. The biophosphanate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.4, p.265- 270, 1995.

TARDIN, A.C. Visão nutricional dos problemas locomotores em frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 1995. p.71-83.

WATKINS, B. A. Avian bone metabolism: Cell mediated mineralization and localized regulatory factors. **Journal of Nutritional**, v.123, n.2, p.299-300, 1993.

CAPÍTULO 5

IMPLICAÇÕES

IMPLICAÇÕES

Nos últimos anos, a dosagem da vitamina D nas dietas de frangos de corte a fim de diminuir os problemas locomotores vem sendo bastante discutida. Apesar de debates intensos, pesquisadores e profissionais da área de produção e nutrição animal têm obtido resultados bastante divergentes em relação a esses problemas. Neste sentido, pesquisas com essa vitamina cresceram vertiginosamente visando melhorar o bem-estar de frangos de corte. Contudo, as pesquisas com vitamina D₃ e 25-OHD₃, como a do presente estudo, ainda observam resultados muito controversos, que pode ser decorrente das diferentes dosagens e das combinações das fontes utilizadas.

As deformidades ósseas, a degeneração femoral e a pododermatite são problemas que acometem as aves até a atualidade e causam prejuízos consideráveis à indústria avícola, podendo comprometer a qualidade final das carcaças. Devido a isto são consideradas linhas de pesquisa de grande importância, visto que todas se remetem ao bem-estar animal.

Neste experimento, foi utilizada como desafio a formulação de dieta de crescimento superior para frangos de corte, com objetivo de simular as condições próximas à realidade das granjas comerciais quando se pretende ter um crescimento mais rápido das aves, o que pode levar a um desencadeamento de problemas de locomoção. A vitamina D, independente da fonte utilizada neste estudo, melhorou a incidência de discondroplasia tibial, já que não foi observada nos animais em estudo e ainda não influenciou o desempenho de frangos de corte. Entretanto não melhorou a qualidade óssea e a pododermatite em frangos de corte aos 42 dias de idade. Embora histopatologicamente, no escore mais severo de lesão de degeneração femoral foi possível observar melhor arranjo celular nos tratamentos com maiores dosagens de vitamina D.

Portanto, considera-se pertinente a realização de mais pesquisas sobre a influência desta vitamina sobre problemas locomotores, características ósseas, pododermatite e ainda estabelecer dosagens mais adequadas entre as fontes de vitamina D para frangos de corte.