

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO E ADITIVOS  
FITOGÊNICOS NAS DIETAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS  
NO SISTEMA ALTERNATIVO DE PRODUÇÃO**

VANESSA CRISTINA PELÍCIA

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor, Área de concentração Nutrição e Produção animal.

BOTUCATU - SP  
Novembro - 2011

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

**GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO E ADITIVOS  
FITOGÊNICOS NAS DIETAS DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS  
NO SISTEMA ALTERNATIVO DE PRODUÇÃO**

VANESSA CRISTINA PELÍCIA  
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. JOSÉ ROBERTO SARTORI

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor, Área de concentração Nutrição e Produção animal.

BOTUCATU - SP  
Novembro – 2011

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

P384g Pelícia , Vanessa Cristina, 1980-  
Glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos nas dietas de frango de corte criados no sistema alternativo de produção / Vanessa Cristina Pelícia. - Botucatu : [s.n.], 2011  
x, 106 f. : il., color., tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2011

Orientador: José Roberto Sartori  
Inclui bibliografia

1. Aditivos alternativos. 2. Antibióticos. 3. Extratos vegetais. 4. Cocciose . 5. Turnover. I. Sartori, José Roberto. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"(Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.*

**Chico Xavier**

## DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo **Luís Gustavo Modelli de Andrade** pelo amor, companheirismo, incentivo e colaboração, e a minha filha **Gabriela Pelícia de Andrade**, alegria da minha vida, pelo carinho e companhia. Amo vocês!*

*Aos meus pais **Wilson Pelícia e Suzilei Aparecida Brito Pelícia** e ao meu irmão **Maycon Pelícia** pela torcida, apoio e encorajamento durante todo esse período.*

## AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, pela proteção, iluminação e por guiar meus caminhos em todos os momentos.

Ao **Prof. Dr. José Roberto Sartori**, em especial, pelos ensinamentos, orientação, paciência, confiança e amizade durante todos esses anos de convívio.

Ao Programa de **Pós-Graduação em Zootecnia** da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso;

À **Fundação de Amparo a Pesquisa** do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos – processo 2008/57306-6;

Aos colegas e amigos do Laboratório de Nutrição de Aves da FMVZ-UNESP-Botucatu, **Ana Cristina Stradiotti, Priscila Cavalca de Araujo, Mariana Kiyomi Maruno, Francine Vercese, Carolina Carvalho de Miranda, Luciene Aparecida Madeira, Thaila Cristina Putarov, Bárbara Cristina da Silva Fernandes, Renata Sena de Souza Gomes de Oliveira, Everton Moreno Muro, Ivan Mailinch Gonçalves Pereira de Souza, Wanderley Thiago da Silva, Renata Mendes Dolazzala, Fabyola Barros de Carvalho, Natani Cruz Alexandre, Lucimara Patricia Centenaro, Pedro Gibim Castelo, Gustavo do Vale Polycarpo, Monica Aoyage Megumi, Fabiana Luiggi, Juliana Cristina Ramos Rezende, Luciano Aparecido Pereira e Estela Valéria Siloto** pela ajuda nos trabalhos experimentais, pela amizade e pelos bons momentos proporcionados;

Ao Professor **Carlos Ducatti** e aos funcionários e colegas do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do IB-UNESP, **Evandro Tadeu da Silva, Cibele Regina de Souza Kruliski, Silvia Américo Maschette, Juliana Célia Denadai e Maria Márcia Pereira Sartori** pelo auxílio na realização das análises isotópicas;

Aos professores e colegas do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e Departamento de Produção Animal da FMVZ, que gentilmente concederam e compartilharam seus conhecimentos e experiências;

Aos secretários da Seção de Pós-Graduação em Zootecnia, **Seila Cristina Cassinelli Vieira e Carlos Pazini Junior**, pela atenção e auxílios prestados;

Aos funcionários da fábrica de ração pela colaboração na confecção das rações experimentais e amizade;

Às empresas **Ajinomoto Animal Nutrition, Phytosynthese La Phytothérapie Animale Titree e M.Cassab Tecnologia Animal** pela doação dos produtos utilizados durante o experimento;

Aos meus tios, primos e avós, pelo carinho, incentivo e presença constante em minha vida.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – Considerações Iniciais</b> .....	1
Introdução.....	2
Revisão de Literatura.....	4
1. Glutamina (Gln) e ácido glutâmico/glutamato (Glu).....	4
1.1. Importância para o sistema imune.....	11
1.2. Importância para a estrutura do intestino e desempenho dos animais.....	12
2. Aditivos fitogênicos (extratos vegetais e óleos essenciais).....	18
2.1. Ação antimicrobiana.....	19
2.2. Efeito sobre a digestibilidade e desempenho.....	23
3. Frangos criados no sistema alternativo de produção.....	26
4. Coccidiose Aviária.....	27
Referências Bibliográficas.....	31
<b>CAPÍTULO 2 – Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte alternativos</b> .....	44
Resumo.....	45
Abstract.....	46
Introdução.....	47
Material e métodos.....	48
Resultados.....	51
Discussão.....	53
Conclusão.....	54
Referências.....	55

<b>CAPÍTULO 3 – Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte alternativos desafiados com <i>Eimeria acervulina</i>.....</b>	<b>59</b>
Resumo.....	60
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Material e métodos.....	63
Resultados.....	67
Discussão.....	69
Conclusão.....	70
Referências.....	70
<b>CAPÍTULO 4 - Ação trófica dos aditivos fitogênicos e da glutamina mais ácido glutâmico na <i>bursa de Fabrícus</i> e intestino delgado de frangos de corte.....</b>	<b>74</b>
Resumo.....	75
Abstract.....	76
Introdução.....	77
Material e métodos.....	78
Resultados.....	82
Discussão.....	85
Conclusão.....	89
Referências.....	89
<b>CAPÍTULO 5 – Implicações.....</b>	<b>104</b>

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 2 – Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte alternativos**

<b>TABELA 1.</b> Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.....	50
<b>TABELA 2.</b> Valores médios de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), mortalidade (MO) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.....	52
<b>TABELA 3.</b> Valores médios de rendimento de carcaça e partes, segundo os tratamentos aos 42 dias de idade.....	53

### **CAPÍTULO 3 - Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte alternativos desafiados com *Eimeria acervulina***

<b>TABELA 1.</b> Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.....	66
<b>TABELA 2.</b> Valores médios de peso final (PF), ganho de peso diário (GPD), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), mortalidade (MO) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.....	68
<b>TABELA 3.</b> Valores médios de rendimento de carcaça e partes, segundo os tratamentos aos 42 dias de idade.....	68

**CAPÍTULO 4 - Ação trófica dos aditivos fitogênicos e da glutamina mais ácido glutâmico na *bursa de Fabrícus* e intestino delgado de frangos de corte alternativos**

<b>TABELA 1.</b> Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.....	94
<b>TABELA 2.</b> Porcentagem da região cortical da <i>Bursa de Fabrícus</i> de frangos de corte segundo os tratamento aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade.....	95
<b>TABELA 3.</b> Escores de lesão no intestino dos frangos, segundo os tratamentos, aos 5; 6; 7; 8; 9; 10; 12; 19 dias após inoculação (21, 22, 23, 24, 25, 26, 28 e 35 dias de idade).....	96
<b>TABELA 4.</b> Número de oocistos de <i>Eimeria acervulina</i> , segundo os tratamentos, aos 4, 5, 6 e 7 dias após inoculação nas aves.....	97
<b>TABELA 5.</b> Valores médios de altura de vilos e profundidade de criptas do duodeno, jejuno e ileo de frangos de corte, segundo os tratamentos, aos 7 dias de idade.....	98
<b>TABELA 6.</b> Valores médios de altura de vilos e profundidade de criptas do duodeno, jejuno e ileo de frangos de corte, segundo os tratamentos, 5 dias após inoculação das aves com oocistos de <i>Eimeria acervulina</i> (21 dias de idade).....	99

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 1 – Considerações Iniciais**

**FIGURA 1.** Metabolismo de síntese, liberação e consumo de glutamina pelas células..... 7

**FIGURA 2.** Metabolismo de glutamina e glutamato..... 10

### **CAPÍTULO 4 - Ação trófica dos aditivos fitogênicos e da glutamina mais ácido glutâmico na bursa de Fabrícus e intestino delgado de frangos de corte**

**FIGURA 1 (a e b).** *Turnover* dos isótopos estáveis do  $^{13}\text{C}$  (média  $\pm$  desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de 1 a 21 dias de idade, valores de meia vida (T), em dias ou horas e coeficientes de determinação ( $R^2$ )..... 100

**FIGURA 2 (a e b).** *Turnover* dos isótopos estáveis do  $^{13}\text{C}$  (média  $\pm$  desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de 21 a 42 dias de idade, valores de meia vida (T) em dias ou horas e coeficientes de determinação ( $R^2$ )..... 101

**FIGURA 3** na superfície interna do intestino das aves causadas pela *E. acervulina*..... 102

**FIGURA 4.** Cortes histológicos da região do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) com aumento de 10 X. Encurtamento das vilosidades e aumento da profundidade de criptas do duodeno aos 21 dias de idade..... 103

## ABREVIATURAS

AC = anticoccidiano

AFs = aditivos fitogênicos

AMD = antibiótico melhorador de desempenho

AMD/AC = antibiótico melhorador de desempenho + anticoccidiano

AV= altura de vilosidades

CA = conversão alimentar

CR = consumo de ração

CV = coeficiente de variação

DC = dieta controle

EVs =extratos vegetais

FP = fator de produção

Gln = glutamina

Glu = ácido glutâmico / glutamato

Gln/Glu = glutamina + ácido glutâmico / glutamato

GP = ganho de peso

OEs = óleos essenciais

P = probabilidade ao nível de 5%

PC = profundidade de cripta

PF = peso final

# **CAPÍTULO 1**

## **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## INTRODUÇÃO

O Brasil está posicionado entre os maiores produtores e exportadores de carne avícola do mundo, devido, em grande parte aos avanços tecnológicos, que garantem competitividade no mercado mundial de carnes. Esses avanços estão associados aos conhecimentos nas áreas de manejo, alimentação, nutrição e saúde do animal que, em conjunto com o melhoramento genético, possibilitaram melhoras no desempenho das aves e aumento da produção de frangos de corte.

A sobrevivência e desempenho das aves dependem da obtenção adequada de nutrientes pelo organismo. Para que isso ocorra é necessário que o trato gastrintestinal apresente características estruturais funcionais desde a ingestão dos alimentos até sua absorção no intestino (ROMER e PARSON, 1985).

Distúrbios na microbiota normal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, patógenos, substâncias químicas, podem alterar a permeabilidade desta barreira natural, facilitando a invasão de patógenos e outras substâncias nocivas, modificando o metabolismo, a capacidade de digestão e absorção de nutrientes e causando ainda inflamações crônicas na mucosa intestinal (PODOLSKY, 1993).

Antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos têm sido utilizados nas dietas dos animais com a finalidade de controlar agentes prejudiciais ao processo de digestão e absorção dos nutrientes, promovendo melhoras nos índices de produção. Porém, a segurança no uso de antibióticos como melhoradores de desempenho começou a ser questionada pela possibilidade dos microrganismos patogênicos adquirirem resistência aos antibióticos (GUSTAFSON e BOWEN, 1997), o que poderia trazer consequências prejudiciais à saúde humana. Consequentemente, alguns países vêm proibindo o uso de antibióticos em níveis subterapêuticos com função preventiva e como melhoradores de desempenho na dieta de animais destinados à produção de alimentos, como é o caso da União Européia e mais recentemente da Coreia do Sul.

A União Européia, um dos mais exigentes mercados consumidores de proteína animal, ainda autoriza a utilização de anticoccidianos químicos como, por exemplo, a Nicarbazina. Porém a pressão por parte dos consumidores e grupos ativista a favor da

proibição total de qualquer antimicrobiano como melhorador de desempenho na produção de animais destinados ao consumo ainda é grande.

Recentemente, no Brasil, se discutia a liberação ou proibição do uso não terapêutico de antimicrobianos em dieta de animais de produção, como melhoradores de desempenho. Mas no dia 6 de julho de 2011, a Comissão de Assuntos Sociais rejeitou o projeto de lei do Senado que visava proibir o uso desses produtos no Brasil, alegando ser possível manter o uso consciente dos antimicrobianos para a produtividade da criação animal sem prejuízos dos aspectos de segurança alimentar (AVISITE, 2011). Apesar de no Brasil ainda ser permitido o uso destes antimicrobianos, o país tem buscado se adaptar às exigências internacionais de exportação e atender às legislações vigentes.

Com a proibição da utilização de antibióticos melhoradores de desempenho por países importadores de carne de frango brasileira e com o surgimento de consumidores cada vez mais preocupados com a qualidade dos produtos, exigindo alimentos mais saudáveis com ausência de resíduos, cresce a demanda por produtos da área avícola denominados alternativos. O frango alternativo designa frango de produção intensiva, criado sem o uso de antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal, além de menor densidade de aves por metro quadrado (DEMATTÊ FILHO e MENDES, 2001).

Sabe-se que a retirada dos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos da dieta dos animais resultam em piora na saúde intestinal, na absorção de nutrientes e no desempenho produtivo, gerando grandes perdas econômicas no setor avícola.

Diante dessa situação, nutricionistas têm estudado uma série de produtos e/ou nutrientes que auxiliam, por meio de mecanismos específicos, a superar desafios que favorecem a manifestação de problemas entéricos nos animais, como por exemplo, os ácidos orgânicos, enzimas, probióticos, prebióticos, leveduras, nucleotídeos, óleos essenciais, extratos vegetais, glutamina e ácido glutâmico.

Pesquisas têm demonstrado que glutamina e ácido glutâmico (NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b; YI et al., 2005a e 2005b; YOO et al., 1997), bem como óleos essenciais e extratos vegetais (CHRISTAKI et al., 2004; JAMROZ et al., 2005; VASCONCELOS et al.,

2010) são capazes de melhorar a resposta imune e a microflora intestinal prevenindo efeitos negativos na estrutura do intestino e, conseqüentemente, melhorar absorção dos nutrientes e o desempenho final dos animais, o que os tornam suplementos interessantes para criação de frangos de corte alternativos durante períodos de desafio.

## REVISÃO DE LITERATURA

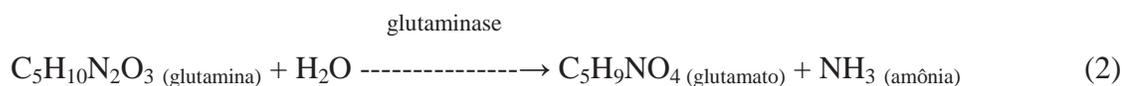
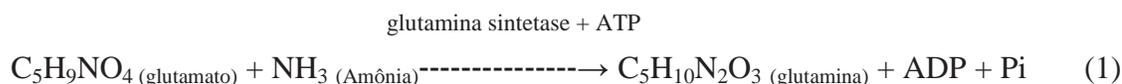
### 1. Glutamina (Gln) e Ácido glutâmico/Glutamato (Glu)

Aminoácidos podem desempenhar várias funções no organismo desde a formação de proteínas até outros processos metabólicos, podendo exercer ações regulatórias ou excitatórias. São denominados essenciais aqueles cujo organismo não pode sintetizar, ou são sintetizado em quantidades insuficientes, devendo ser obtidos de fontes exógenas. Glutamina e ácido glutâmico (glutamato) são aminoácidos considerados não essenciais devido à capacidade de síntese pelo organismo (LACEY e WILMORE, 1990). Porém, em algumas situações, como em um indivíduo enfermo, as necessidades de um aminoácido não essencial podem ultrapassar a capacidade de síntese do organismo e, por ser fisiologicamente indispensável para o organismo, é denominado “condicionalmente essencial” (YOUNG e MARCHINI, 1990).

Glutamato é o mais abundante aminoácido intracelular (NEWSHOLME et al., 2003a), enquanto que a glutamina é o aminoácido livre mais abundante no fluído extracelular (aproximadamente 25% do total dos aminoácidos) e no *pool* de aminoácidos livres no corpo (mais de 60% do total de aminoácidos livres no músculo esquelético) (PIVA et al., 2001). O glutamato tem grande importância nos processos metabólicos das células, sendo indispensável para o crescimento da maioria das células e tecidos (PIERZYNOWSKI et al., 2001).

A glutamina é quantitativamente o mais importante combustível para células e tecidos que se dividem rapidamente, especialmente células do sistema imune e enterócitos (ARDAWI e NEWSHOLME, 1990; PIVA et al., 2001; NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b).

O metabolismo intracelular da glutamina é regulado através de duas enzimas principais: a enzima glutamina-sintetase, que catalisa a síntese de glutamina a partir de glutamato e amônia e a enzima glutaminase, que catalisa a hidrólise da glutamina e leva à formação de glutamato e amônia, como mostra a reação (1) e (2), respectivamente (MEISTER et al., 1980). O glutamato pode ser produzido a partir da transaminação do  $\alpha$ -cetogluturato (oxogluturato) e pode ser utilizado na síntese protéica ou ser convertido em  $\alpha$ -cetogluturato e, nas células do intestino, à alanina (HALL et al., 1996; NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b). O fígado utiliza a alanina produzida pela degradação da glutamina no intestino para a gliconeogênese (HAUSSINGER, 1990). A energia gerada pela oxidação do  $\alpha$ -cetogluturato no ciclo de Krebs leva à produção de 30 moles de ATP, o que torna a glutamina e o glutamato substratos energéticos tão importantes quanto à glicose (MINAMI et al., 1992).



Por ter em sua estrutura dois grupos nitrogenados altamente metabolizáveis, a glutamina atua como veículo para transferência de nitrogênio e amônia entre os tecidos (DARMAUN e HUMBERT, 2000), sendo responsável por regular os níveis de amônia, o qual pode ser tóxico para as células corporais. No rim, a  $\text{NH}_3$ , liberada da glutamina pela ação da glutaminase, se combina com  $\text{H}^+$ , liberado a partir da dissociação do ácido carbônico ( $\text{HCO}_3^-$ ), formando  $\text{NH}_4^+$  que é excretado pela urina (no caso das aves, juntamente com o ácido úrico). O  $\text{HCO}_3^-$  formado após a dissociação do  $\text{H}^+$ , entra na circulação onde é importante para manutenção do pH do sangue (GSTRANTHALER et al., 2000). Portanto o metabolismo da glutamina no rim é importante para regulação do equilíbrio ácido-base no plasma sanguíneo.

A síntese de glutamina ocorre nos pulmões, fígado, cérebro e principalmente nos músculos esqueléticos. Este último é responsável pela manutenção dos níveis plasmáticos e

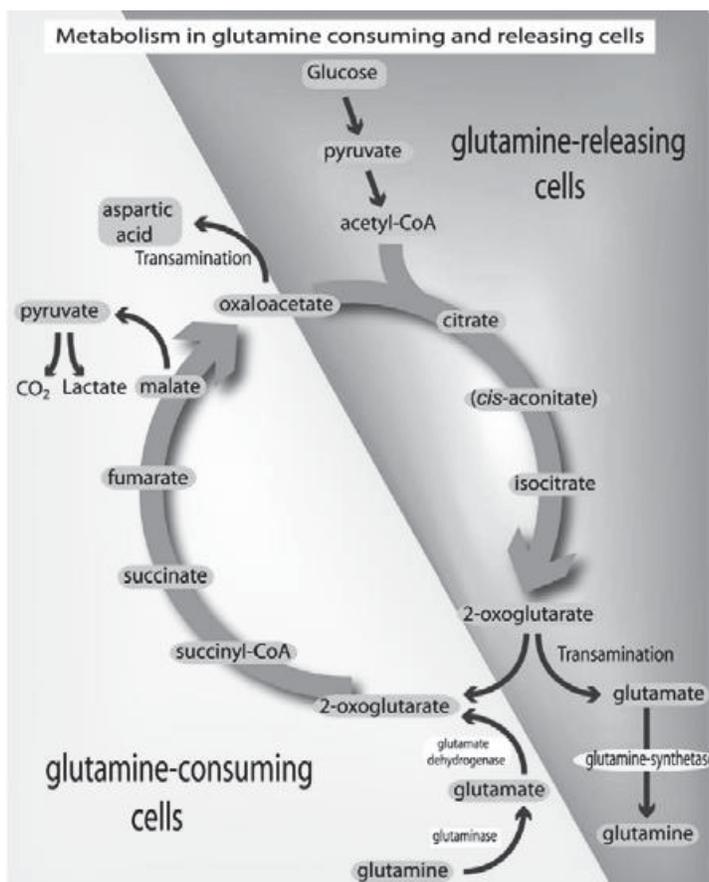
por prover outros tecidos com glutamina (PIVA et al., 2001). Os rins, células do sistema imune e do trato gastrintestinal consomem a glutamina, enquanto o fígado tanto consome como produz (NEWSHOLME et al., 1999). Reeds et al. (1996) relataram que as células da mucosa intestinal, tanto na região das criptas, quanto nos vilos, não utilizam apenas glutamina extracelular, mas também a sintetizam para uso local.

O fígado apresenta hepatócitos peri-portais e peri-venosos com alta concentração de glutaminase e glutamina-sintetase, respectivamente, captando ou liberando glutamina ou amônia de acordo com as necessidades metabólicas do organismo. O metabolismo do nitrogênio hepático é um meio eficaz (regulando o fluxo de amônia em uréia ou glutamina) para manter o equilíbrio ácido-base (HAUSSINGER, 1990).

O nitrogênio é transportado para o fígado, dos tecidos periféricos, na forma de glutamina (principalmente do músculo) e alanina (se a glutamina for absorvida e metabolizada pelo intestino). O nitrogênio da glutamina é utilizado para síntese de uréia, onde a amônia entra em uma reação catalizada pela carbamil fosfato sintetase formando carbamil fosfato que, combinado com ornitina no ciclo da uréia, produz citrulina que é convertida em arginina e posteriormente clivada produzindo uréia e ornitina. O esqueleto de carbono é usado para a síntese de glicose pelas células periportais, sendo que o glutamato pode ser metabolizado para produção de outros aminoácidos por transaminação ou entrar na neoglicogênese, sendo convertido a  $\alpha$ -cetogluturato pela ação da enzima glutamato desidrogenase resultando na formação de glicose. A síntese de glutamina ocorre nas células perivenosas a partir do glutamato mais amônia. O glutamato pode ser produzido a partir da conversão da glicose em  $\alpha$ -cetogluturato ou a partir do catabolismo da arginina (NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b).

A glutamina pode ser sintetizada e liberada por células e tecidos (por exemplo músculo esquelético e fígado) de acordo com a necessidade de consumo por outras células e tecidos refletindo em um equilíbrio entre síntese, liberação e consumo (CURI et al., 2007). Uma mudança nesse equilíbrio, como por exemplo durante defesa do organismo contra invasão por patógeno aumentando a necessidade de consumo de glutamina por células do sistema imune, deve ser equilibrado novamente com a síntese e liberação de

glutamina por célula do músculo esquelético. A Figura 1 ilustra o metabolismo de síntese, liberação e consumo de glutamina pelas células.



**Figura 1.** Metabolismo de síntese, liberação e consumo de glutamina pelas células (CURI et al., 2007).

No pâncreas, a glicose é o principal estimulador da secreção de insulina, no entanto, a glutamina tem sido citada como potencializadora da estimulação da secreção de insulina pela glicose, porém ela não promove a secreção de insulina por si só, devido à regulação pela glutamato desidrogenase (TANIZAWA et al., 2002).

Além de participar da estrutura de proteínas e peptídeos, a glutamina fornece cadeia de carbono e um grupo amínico que entra nas vias que levam à síntese de outros aminoácidos, nomeadamente prolina, ornitina e arginina. O nitrogênio amínico da glutamina pode ser utilizado para síntese de purinas e pirimidinas, constituintes básicos dos

nucleotídeos (WU, 1998). Segundo Newsholme (2001), o fato do nitrogênio amínico da glutamina ser utilizado para síntese de nucleotídeos, seria uma das explicações para a alta necessidade de glutamina em células que se proliferam rapidamente, como as do sistema imune e da mucosa intestinal.

Para Wilmore e Shabert (1998), a suplementação com glutamina pode ser benéfica no apoio terapêutico da mucosa intestinal e sistema imunológico em condições de doenças ou traumas, o que levou à reclassificação da glutamina como um aminoácido condicionalmente essencial.

Estudos revelaram que existe uma correlação positiva entre a concentração de glutamina livre e a taxa de síntese protéica no músculo esquelético (SOUBA et al., 1990a). Além de a glutamina estimular a síntese protéica no músculo, possui também efeito inibitório sobre a quebra de proteína muscular (MACLENNAN et al., 1988). Portanto, a glutamina pode atuar como um regulador metabólico aumentando a síntese de proteína e reduzindo o catabolismo protéico se suplementada na dieta (LOBLEY et al., 2001).

A glutamina e o glutamato da dieta são absorvidos pelas células epiteliais a partir da luz intestinal para os capilares, através da membrana baso-lateral. O transporte através da membrana ocorre, principalmente, por meio de um sistema sódio dependente (BULUS et al., 1989). As células epiteliais da mucosa intestinal têm alta concentração de glutaminase, compatível com as altas taxas de captação e utilização de glutamina (PINKUS et al., 1990).

A glutamina é absorvida juntamente com o sódio co-transportador que gera gradiente de concentração entre o meio intracelular e extracelular propiciando um fluxo de água para dentro das células e dilatando-as. Essa dilatação por hidratação, segundo Noé et al. (1996), resulta na ativação de proteínas sinalizadoras intracelulares (MAPK) que ativam proteínas quinases. Blikslager e Roberts (1997) e Rhoads et al. (1997) também relataram que glutamina tem papel regulatório no organismo por ativar proteína quinase, que por sua vez, ativa transcrição gênica, e que a inibição da síntese de glutamina inibe tanto a proliferação, quanto a diferenciação de culturas de células da mucosa intestinal. A ativação do sistema MAPK e, conseqüentemente, das proteínas quinases pode explicar, em parte, as propriedades anabólicas da glutamina no fígado, músculo esquelético, mucosa intestinal ou sistema imune (HAUSSINGER et al., 2001).

O glutamato, especialmente o derivado da dieta, pode facilmente substituir a glutamina em diversos dos seus papéis metabólicos, incluindo geração de energia e síntese de aminoácidos. Do ponto de vista estritamente metabólico, glutamina e glutamato são intercambiáveis como importante substrato para o sistema celular da mucosa (REEDS e BURRIN, 2001).

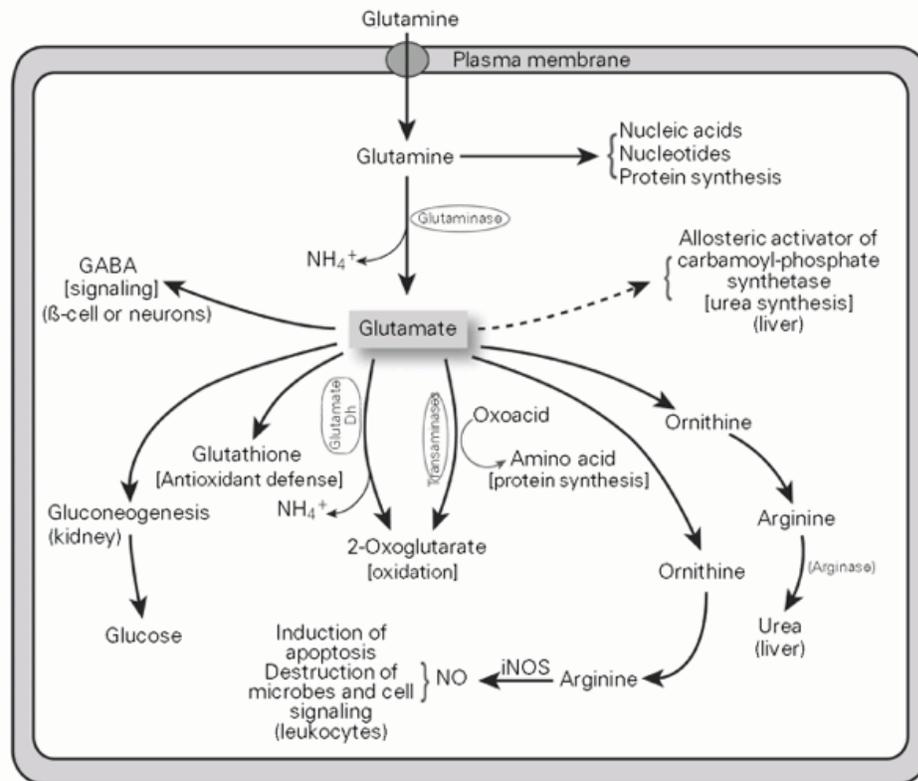
Reeds et al. (1996) relataram que 95% do glutamato da dieta de leitões presente na mucosa foi metabolizado na primeira passagem, e destes, 50% foram metabolizados em CO<sub>2</sub>. Já a oxidação da glicose na primeira passagem pela mucosa foi muito limitada. Os autores concluíram que o glutamato é o maior contribuinte para a geração de energia no intestino.

Doador de carbono e nitrogênio, em uma série de importantes vias metabólicas que incluem a síntese de prolina, citrulina e arginina, o glutamato entérico, e não o glutamato derivado da glutamina é fonte preferencial para síntese de glutatona na mucosa (REEDS et al. 1997). A Glutaciona tem papel importante na proteção da mucosa contra danos peroxidativos e contra toxinas alimentares (AW e WILLIAMS, 1992).

O glutamato é também um neurotransmissor excitatório que possui receptores no sistema nervoso central (OZAWA et al., 1998). Segundo Meldrum e Garthwaite (1990), a ativação excessiva destes receptores pelo glutamato pode acarretar em neurotoxicidade com degeneração neuronal e morte celular.

Nas células pancreáticas, o glutamato é importante substrato para a enzima ácido glutâmico descarboxilase, que produz a molécula sinalizadora  $\gamma$ -amino ácido butírico GABA (RUBI et al., 2001), importante para a regulação da secreção de insulina (WINNOCK et al., 2002).

Para Newsholme et al. (2003a e 2003b), a glutamina em si pode funcionar como um precursor-chave para síntese de ácidos nucleicos e nucleotídeos, mas em muitas circunstâncias fisiológicas é o ato de fornecer o glutamato (via glutaminase), que parece promover ampla gama de funções metabólicas no organismo (Figura 2).



**Figura 2.** Metabolismo de glutamina e glutamato. Glutamato produzido a partir de glutamina (via enzima glutaminase). O glutamato pode ser convertido para GABA, ornitina,  $\alpha$ -cetoglutarato (oxoglutarato), glicose ou glutatona. As funções prováveis dos produtos de glutamato estão indicados, bem como as células ou órgãos onde a via metabólica ocorre preferencialmente. NO = óxido nítrico; iNOS = óxido nítrico sintase induzida; Glutamato Dh = glutamato desidrogenase (Newsholme et al., 2003b).

Além de atuar como neurotransmissor no sistema nervoso central, como precursor da síntese de glutatona,  $\gamma$ -amino ácido butírico (GABA) e outros aminoácidos e na geração de energia, pesquisas recentes têm demonstrado a importância do ácido glutâmico na formação do colágeno, sendo necessária sua suplementação em dietas para aves em crescimento na prevenção de deformação de pernas e leões na pele (SILVA et al., 2001; MORAES et al., 2010; STILBORN e MORAN, 2010).

### **1.1. Importância para o sistema imune**

A glutamina é muito utilizada em altas taxas por células isoladas do sistema imune, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos, associada à atividade funcional destas células, como a proliferação, apresentação de antígenos, produção de citocinas, óxido nítrico, superóxido e fagocitose (NEWSHOLME et al., 1985; NEWSHOLME, 2001; NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b).

A proliferação de linfócitos é o processo de divisão em resposta a um estímulo mitogênico, como a apresentação de antígeno processado por uma célula apresentadora de antígeno ao linfócito T. Na ausência de glutamina essas células não se proliferam e com o aumento da concentração de glutamina, aumenta proliferação de linfócitos, o que as caracteriza como dependentes de glutamina (YAQOOB e CALDER 1997). Em resposta à estimulação de linfócitos T, há um reforço na transcrição de genes de várias citocinas e receptores de citocinas. A síntese e secreção da citocina IL-2 e da apresentação na superfície celular dos receptores para IL-2 são necessárias para ativar proliferação de linfócitos T (SMITH, 1988) e quanto maior a disponibilidade de glutamina maior produção de IL-2 e expressão do receptor da IL-2 nos linfócitos (YAQOOB e CALDER, 1997).

O fator de necrose tumoral (FNT), primeira citocina liberada em resposta a endotoxina bacteriana (LPS) e produzida principalmente por monócitos e macrófagos ativados, acarreta a morte da célula bacteriana. Segundo Murphy e Newsholme (1999), a produção de FNT por macrófagos de ratos aumenta com o aumento da disponibilidade de glutamina. Outras citocinas que atuam na estimulação de linfócitos, tais como as IL-1 (WALLACE e KEAST, 1992), IL-6 (PELTONEN et al., 1997) e IL-8 têm sua produção aumentada em resposta à estímulos inflamatórios, com o aumento da concentração de glutamina (MURPHY e NEWSHOLME, 1999).

A diferenciação de linfócitos B e síntese de anticorpos também são dependentes de glutamina (CRAWFORD e COHEN, 1985) e os macrófagos, células muito ativas caracterizadas por altos índices de fagocitose, secreção de proteínas e reciclagem da membrana, tem sua função (fagocitose e apresentação de antígeno) aumentada com o aumento disponibilidade de glutamina (SPITTLER et al., 1997).

Maiores concentrações de anticorpos foram observadas em ratos (BURKE et al., 1989) e frangos (BARTELL e BATAL, 2007) alimentados com dieta suplementada com glutamina em relação à animais recebendo dieta não suplementada.

Estudos em animais indicam que as concentrações plasmáticas de glutamina estão diminuídas em situações de estresse, como infecções (ARDAWI e MAJZOUB, 1991) e ferimentos (ALBINA et al., 1987) e, diante dos efeitos estimuladores da glutamina já relatados, parece ser importante fornecer glutamina para animais nestas situações para o bom funcionamento do sistema imunológico. Assim, estudos em animais e em seres humanos têm sido realizados para investigar o efeito do glutamina sobre a capacidade em responder às infecções.

Frente à infecção por *Escherichia coli*, foram relatados aumentos na sobrevivência de ratos (INOUE et al., 1993) e na proliferação de linfócitos no sangue de leitões (YOO et al. 1997) quando administrada glutamina exógena. Souba et al. (1990c) observaram que a incidência de translocação bacteriana foi reduzida de 89 para 20% em ratos que receberam glutamina via água de bebida. Em outro estudo, menores escores de lesão foram relatados em frangos de corte desafiados com *Eimeria maxima*, quando alimentados com dieta suplementada com glutamina em relação às aves alimentadas com dieta não suplementada (YI et al., 2005a).

Diante destes resultados, podemos atribuir à glutamina efeitos benéficos na modulação do sistema imune contra infecção por patógenos.

Embora esteja evidente a importância da glutamina para células do sistema imunológico, o glutamato pode ser igualmente importante com o fornecimento de energia, sendo este também necessário para formação de novas proteínas, DNA e RNA (NEWSHOLME et al., 1996).

## **1.2. Importância para estrutura do intestino e desempenho dos animais**

O efeito da glutamina e glutamato sobre o desenvolvimento, função e reconstituição da mucosa intestinal vêm sendo investigado em diversas pesquisas.

Como descrito anteriormente, estes aminoácidos têm sido reconhecidos como importante substrato energético para células que se proliferam rapidamente, como células

do sistema imune e células da mucosa intestinal (WINDMUELLER e SPAETH, 1974; NEWSHOLME et al., 1985; NEWSHOLME, 2001; PIVA et al., 2001; NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b), contribuindo de forma substancial para o fornecimento de energia necessária para o desempenho das atividades metabólicas destas células.

Para o fornecimento de energia no intestino, a glutamina é convertida à glutamato (via glutaminase) e, em seguida, a  $\alpha$ -cetoglutarato (via glutamato desidrogenase) e, então, convertida a succinato, fumarato e finalmente a malato no ciclo do ácido tricarboxílico, formado piruvato (pela ação da enzima málica NADP<sup>+</sup>-dependente) que sofre aminação para produzir alanina (via alanina transaminase). O NADH + H<sup>+</sup> e FADH<sub>2</sub> gerados através dessa via são utilizados para a doação de elétrons para a cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria e, assim, promover a síntese de ATP (energia para célula). A alanina produzida por essa via é exportada para veia porta hepática para o transporte até o fígado (KIMURA et al., 1988; NEWSHOLME et al., 2003a e 2003b).

Por ser considerada precursora para síntese de purinas e pirimidinas (constituintes básicos dos nucleotídeos, componentes das moléculas de DNA e RNA) e de outros aminoácidos, a glutamina pode suportar a divisão (*turnover*) das células da cripta, conduzindo ao aumento do número e altura dos vilos e auxiliando no reparo das injúrias no epitélio intestinal (PIVA et al., 2001). Segundo estes mesmos autores, em condições patológicas o *pool* de glutamina e glutamato pode ser crítico para as funções do intestino e de outros órgãos. A glutamina também é precursora para síntese de N-acetil-glicosamina e N-acetil-galactosamina, que podem desempenhar um papel importante na síntese intestinal de mucina e, portanto, na manutenção da barreira passiva à invasão bacteriana (KHAN et al., 1999). Para Souba et al. (1990 b), a glutamina pode ser um componente essencial da dieta para manutenção do metabolismo intestinal, estrutura e função, especialmente durante a doença crítica, quando a barreira da mucosa intestinal pode ficar comprometida.

Porteous (1980) estudando o metabolismo de glutamato, glutamina, aspartato, asparagina e glicose pelas células absortivas do intestino de pintinhos, constatou que o glutamato foi consumido em 20% em relação à taxa de consumo de glicose. Os produtos do metabolismo do glutamato observados em maiores quantidades foram aspartato e glutamina, sendo que a formação de glutamina e a formação de aspartato foram

responsáveis por 60% e 14% do glutamato consumido, respectivamente. Os demais produtos formados, em menores quantidades, foram lactato, alanina e  $\alpha$ -cetoglutarato. A glutamina foi consumida em 12% em relação à taxa de consumo de glicose e 65% em relação à taxa de consumo do glutamato. Os produtos detectados, em maiores quantidades, do metabolismo da glutamina foram aspartato e prolina e estes representavam, em conjunto, menos da metade do consumo de glutamina. Os demais produtos formados foram piruvato, lactato, alanina, serina, amônia e  $\alpha$ -cetoglutarato. Este estudo revelou que o glutamato é absorvido em maior quantidade em relação à glutamina pelas células do intestino de pintinhos.

Windmueller e Spaeth (1975) relataram que, de toda glutamina e glutamato marcados isotopicamente e administrados no lúmen intestinal de ratos, apenas uma pequena fração do glutamato (2%) e 34% da glutamina fornecida foram recuperados inalterados no sangue. O restante destes aminoácidos foi recuperado no sangue como  $\text{CO}_2$  (60%), prolina (5%), a citrulina (4%), alanina (3%), ornitina (2%) e ácidos orgânicos, principalmente de lactato (19%). O nitrogênio amida da glutamina foi recuperado, na sua maioria, como a amônia, e nitrogênio de ambos os aminoácidos predominantemente em alanina. Os autores concluíram que o intestino metaboliza aparentemente quase todo o glutamato absorvido da dieta, enquanto que grande parte da glutamina da dieta é destinada a outros tecidos.

Em estudo realizado por Reeds et al. (1996), para avaliar o metabolismo do glutamato em leitões, os autores observaram que mais que 95% do glutamato, contra apenas 5% da glicose presente no lúmen intestinal foi utilizado pela mucosa. Ao mesmo tempo, os tecidos viscerais extraíram 6% da glicose e 11% do glutamato que chegaram à artéria mesentérica. Os autores também constataram em suas medições que o glutamato, a glicose enteral e a glutamina arterial contribuíram com 36, 6 e 15%, respectivamente, da produção de  $\text{CO}_2$ . Sob condições de alimentação, o glutamato enteral (da dieta) é substrato oxidativo muito mais importante que glicose proveniente da dieta ou glutamina arterial. Estes mesmos autores, a partir de evidências isotópicas tanto *in vivo* como *in vitro*, constataram que as células da mucosa não utilizam apenas glutamina extracelular, mas também a sintetizam, tanto na região das criptas como nos vilos.

Em outro estudo com suínos, o CO<sub>2</sub> foi mais gerado a partir do metabolismo do glutamato enteral do que de glicose enteral e arterial e glutamina arterial (STOLL et al., 1999). Os autores também concluíram que o glutamato da dieta é o mais importante contribuinte para a geração de energia na mucosa.

Uma porção do glutamato também pode ser incorporada na síntese protéica da mucosa e como doador de carbono e nitrogênio em uma série de outras importantes vias metabólicas que incluem a síntese de prolina, citrulina, arginina e glutatona (REEDS et al. 1997).

Blikslager e Roberts (1997) e Rhoads et al. (1997) relataram outra importante função da glutamina como indutora de mecanismos de transcrição gênica pela ativação da proteína quinase, que é uma enzima que ativa a mitose na região das criptas do epitélio intestinal, influenciando na manutenção da estrutura da mucosa.

Bartell e Batal (2007) suplementaram dietas de frangos com 1% de glutamina e observaram aumento na altura das vilosidades intestinais das aves, sendo esta característica benéfica por aumentar a área de superfície de absorção e, conseqüentemente, aumentar a capacidade de absorção dos nutrientes, podendo ter influenciado no maior ganho de peso destas aves em relação às aves do tratamento controle. Em experimento paralelo, estes mesmos autores avaliando suplementação com 1 e 4% glutamina, observaram os mesmos resultados descritos acima para 1% de glutamina, porém com piora no desempenho quando suplementado com o nível de 4% podendo indicar efeito tóxico da glutamina para aves neste nível de inclusão.

Com o nível de 1% de glutamina suplementada nas dietas de frangos de corte, Maiorka et al. (2000), Sakamoto et al. (2005) e Murakami et al. (2007) observaram efeitos benéficos da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal na primeira semana de vida, aumentando a capacidade funcional da mesma, o que pode propiciar melhor desempenho das aves por meio da maior capacidade de digerir e absorver os nutrientes da dieta.

Melhores resultados de desempenho de frangos de corte aos sete dias de idade foram relatados por ZAVARIZE (2008) ao suplementar a dieta com 1,0% de glutamina, sugerindo o efeito positivo deste aminoácido sobre a maturação intestinal por proporcionar

aumento na área de superfície de digestão e de absorção melhora do desempenho durante o período inicial de desenvolvimento do trato digestório. Segundo Sakamoto et al. (2009), a suplementação de dietas de frangos de corte com fontes de glutamina deve ser realizada somente nos primeiros sete dias de idade. Souza et al. (2010) e Nogueira et al. (2010) verificaram que os melhores resultados de desempenho aos 21 e 42 dias de idade ocorreram com o nível de 2% de glutamina na dieta em comparação com os níveis de 0 e 1%.

Liu et al. (2002) verificaram que, em comparação à dieta controle, o fornecimento de dietas suplementadas com 1% de glutamina ou 1% de glutamato para leitões desmamados aos 28 dias de idade preveniu a atrofia do jejuno na primeira semana pós - desmame e melhorou a capacidade de absorção de D-xilose pelo intestino delgado aos 7 e 14 dias após o desmame. Em comparação com os leitões alimentados com a dieta controle ou com 1% de glutamina, o fornecimento de 1% glutamato resultou em maior altura das vilosidades no jejuno 14 dias após o desmame e maior concentração de RNA no músculo esquelético 7 dias após o desmame.

Para Sakamoto et al. (2010a), a suplementação das dietas com glutamina isolada ou associada com ácido glutâmico pode beneficiar a maturação da mucosa intestinal.

Lora et al. (2006) buscaram avaliar a inclusão de diferentes níveis de AminoGut<sup>®</sup> (produto a base de glutamina e de glutamato), sobre o desempenho de frangos de corte criados sobre cama reutilizada. Os autores não encontram efeito da adição de AminoGut<sup>®</sup> sobre o consumo de ração e a conversão alimentar no período, porém, observaram maior ganho de peso para os frangos que receberam rações com os níveis de inclusão de 0,5; 1,0 e 1,5% em relação ao grupo controle, no período de 1 a 42 dias de idade. O maior índice de eficiência produtiva foi obtido com o nível de 1,0% de inclusão de AminoGut<sup>®</sup>. Em estudo semelhante, Avellaneda et al. (2008), observaram maior ganho de peso nos grupos com dieta suplementada com diferentes níveis de AminoGut<sup>®</sup> em relação ao controle na fase inicial de criação. Os frangos alimentados com dieta suplementada com 1,5% apresentaram menor consumo de ração que os suplementados com 0,5 e 1,0%, apresentando a melhor conversão alimentar. Alves et al. (2008) trabalhando com níveis de inclusão de glutamina pura ou associada ao ácido glutâmico, observaram melhora no desempenho das aves com a suplementação, recomendando níveis de 1,5% de L-Gln e 3,0% de AminoGut<sup>®</sup>. Sakamoto

et al. (2010b) também observaram melhores resultados de desempenho ao suplementarem dietas de frangos de corte com 1,5% de glutamina e 3,0% de AminoGut<sup>®</sup>.

Utilizando a técnica dos isótopos estáveis, foi possível constatar que a suplementação com glutamina na dieta de leitões desmamados acelerara o *turnover* da mucosa intestinal, indicando resposta positiva no processo de crescimento, maturação e regeneração deste tecido após danos causados em sua estrutura (CALDARA et al., 2010).

Frente ao desafio com coccidiose, foram relatados maiores alturas de vilos e menores efeitos deletérios sobre as células da mucosa intestinal de frangos de corte quando alimentados com dieta suplementada com 1% de glutamina (YI et al., 2005a; LOPES, 2008). Também com de 1% de glutamina na dieta, foi possível verificar redução nos níveis de salmonela cecal de frangos desafiados com *Salmonella typhimurium* (FASINA et al., 2010).

O uso de glutamina na dieta de leitões tem mostrado resultados positivos na manutenção da estrutura do intestino por ocasião do desmame, tendo em vista a ação trófica direta sobre a mucosa intestinal, contribuindo para sua renovação ou integridade (WU et al. 1996; YI et al., 2005b), e melhor resposta imune frente à infecção por *Escherichia coli* (YOO et al., 1997).

A suplementação da dieta com ácido glutâmico reduziu deformação de pernas e lesões na pele de frangos de corte, o que, segundo os autores, pode refletir a necessidade deste aminoácido para formação de colágeno durante período de rápido crescimento das aves (STILBORN e MORGAN, 2010).

Estes estudos reforçam evidências de que a suplementação com glutamina e ácido glutâmico na dieta de frangos de corte possa oferecer melhorias à estrutura e função do intestino, principalmente em condições de desafio, com consequente melhora no desempenho do animal, principalmente em criações onde é proibido a utilização de antibióticos melhoradores de desempenho.

## **2. Aditivos Fitogênicos (Óleos Essenciais e Extratos Vegetais)**

Aditivos fitogênicos (AFs) constituem-se de produtos derivados de plantas - extratos vegetais (EVs) e óleos essenciais (OEs) - com longo histórico na alimentação humana, onde têm sido utilizados como aromatizantes, conservantes de alimentos e medicamentos (APPLEGATE et al., 2010).

Os EVs, são produtos sólidos, podendo-se utilizar qualquer parte de uma planta, desidratando-a e moendo-a. Os OEs são líquidos oleosos provenientes de diferentes partes das plantas, obtidos por fermentação e destilação a vapor d'água ou por extração com dióxido de carbono líquido sob baixa temperatura e alta pressão (BURT, 2004; LANGHOUT, 2005). O termo essencial foi adaptado da teoria da "quinta essência" (o elemento efetivo nas poções e preparados da antiguidade - conjunto de substâncias extraídas pelo vapor, mas que não se misturam à água).

A utilização de plantas para o tratamento de doenças que acometem os seres humanos é uma prática milenar, de cerca de 3000 anos a.C. (WENDLER, 2006). As propriedades terapêuticas dos vegetais (princípios ativos) estão especialmente relacionadas com os chamados metabólitos secundários. Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. Os terpenos se dividem em monoterpenos, sesquiterpenos, di e triterpenos. Os monoterpenos (geraniol, linalol, citronellol, lavandulol, nerol, menthol,  $\alpha$ -terpineol, carveol, geranial, neral, citronellal, thymol, carvacrol, etc.) são as moléculas mais representativas, constituindo 90% dos óleos essenciais (BAKKALI et al., 2008).

Os metabólitos secundários são compostos de baixo peso molecular, evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas às plantas por meio de mecanismos de defesa para sua sobrevivência como, por exemplo, a produção de substâncias nocivas e tóxicas aos parasitas e predadores (SALISBURY e ROSS, 1992), tornando-se grande atrativo para o tratamento e prevenção de infecções e para a indústria de alimentos devido seu potencial antimicrobiano.

Eugenol, linalol, cinamaldeído encontrados na canela; carvacrol, timol, cimene encontrados no orégano e tomilho; capsaicina e piperina encontrados na pimenta; citronellol do eucalipto; cineol e cânfora do alecrim; boldina, terpineno e pineno

encontrados no boldo; e alicina do alho são alguns dos principais princípios ativos dos AFs estudados com atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante (BURT, 2004; CEYLAN e FUNG, 2004; BRENES e ROURA, 2010).

As substâncias bioativas dos AFs são rapidamente absorvidas no intestino após a administração via oral, e a maioria é metabolizada e eliminada pelos rins na forma de glicuronídeos ou expirado como CO<sub>2</sub> e, por esta razão, diferentemente dos antibióticos, sua acumulação no organismo é improvável devido ao rápido metabolismo e meia vida curta (KOHLERT et al., 2000).

### **2.1. Ação antimicrobiana**

Como mecanismo de ação bactericida, de modo geral, os AFs podem provocar, em vários pontos da célula bacteriana, o aumento na fluidez de membrana citoplasmática com mudanças na integridade celular e ocupação do espaço dos fosfolipídios, alterando a conformação da membrana e sua fluidez, permitindo a saída de íons (saída de K<sup>+</sup> e entrada de H<sup>+</sup>) na célula, o que culmina por provocar mudança do gradiente iônico externo. O H<sup>+</sup> acumulado no interior da célula provoca diminuição do pH que leva à exportação de H<sup>+</sup> com entrada de Na<sup>+</sup>, provocando danos aos sistemas enzimáticos envolvidos na produção de energia e síntese de componentes estruturais, dificultando a condução e transporte do ATP intra-celular, sendo a energia da célula bacteriana utilizada pelas bombas de Na/K ATPase e/ou pela próton ATPase, na tentativa de manter o pH e o balanço iônico celular. As células mudam o metabolismo interno da glicose na tentativa de sobreviver, perdem seu controle quimiostático e, como consequência, as bactérias paralizam seu crescimento ou morrem (DORMAN e DEANS, 2000; ULTEE et al., 2000).

Pesquisas têm sido realizadas para verificar e quantificar a atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo* dos EVs e OEs.

Rota et al. (2004) avaliaram a eficácia de OEs de tomilho (*Thymus vulgaris*), três espécies de sálvia (*Salvia sclarea*, *Salvia officinalis*, *Salvia lavandulifolia*), cinco de lavanda (*Lavandula latifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandin Super*, *Lavandin Abrialis*, *Lavandin Grosso*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), hissopo (*Hissopus officinalis*) e segurelha (*Satureja Montana*) e observaram forte atividade antimicrobiana de tomilho e

segurelha e nenhuma atividade de *Salvia sclarea* e hissopo sobre os microorganismos estudados (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*).

Nedorostova et al. (2009) testaram OEs de 27 espécies de plantas com o objetivo de identificar as propriedades antimicrobianas *in vitro* dos óleos essenciais contra cinco bactérias transmitidas por alimentos (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus*). Os melhores resultados foram mostrados pela raiz-forte (*Armoracia rusticana*), seguido por alho (*Allium sativum*), *Origanum vulgare*, tomilho (*Thymus vulgaris*), segurelha (*Montana satureia*), timo (*Thymus pulegioides*), serpilho (*Thymus serpyllum*), manjerona (*Origanum majorana*), *Caryopteris clandonensis*, hissopo (*Hyssopus officinalis*), menta (*Mentha villosa*), nêveda (*Nepeta faassenii*), manjeriço (*Ocimum basilicum var.*). Os OEs de alho e raiz-forte foram capazes de inibir todas as bactérias.

Ao avaliar a atividade antibacteriana de OEs de orégano, tomilho e canela sobre amostras de *Salmonella* entérica isoladas de carcaças de aves, Santurio et al. (2007) observaram que os óleos foram capazes de inibir o crescimento dos principais sorovares de *Salmonella* entérica onde a atividade do óleo de orégano foi superior ao do tomilho, e este superior ao de canela. Os autores relataram que melhores resultados podem ser obtidos com a associação entre os óleos essenciais, para proporcionar sinergismo entre os óleos.

Zhou et al. (2007) avaliando o potencial antimicrobiano do cinamaldeído, timol e carvacrol frente à *S. typhimurium*, observaram que o cinamaldeído inibiu melhor o crescimento bacteriano do que o timol e o carvacrol. Quando os princípios ativos foram combinados, houve efeito sinérgico, apresentando inibição contra *S. typhimurium* maior que os princípios ativos isolados.

OEs de *Tetraclinis articulata* apresentam moderada atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, podendo ser utilizados, segundo Abi-Ayada et al. (2011), no tratamento de infecções causadas por microrganismos.

OE obtido por hidrodestilação das folhas de boldo (*P. boldus*), apresentou atividade antibacteriana contra *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*,

*Bacillus subtilis* (VILA et al., 1999). Segundo Silva et al. (2009), o OE de canela é eficiente no controle do desenvolvimento de *S. aureus* e *E. coli in vitro*, demonstrando ação bactericida e bacteriotática.

Os efeitos fisiológicos dos diferentes AFs em aves têm sido retratados principalmente sobre a atividade imunoestimulatória, antimicrobiana, antioxidante, digestibilidade e absorção dos nutrientes.

Awaad et al. (2010) observaram maior concentração de anticorpos e peso relativo da *Bursa de Fabricius* em frangos de corte, vacinados contra influenza aviária, quando alimentados com AFs (óleos essenciais de eucalipto e menta) em relação ao grupo alimentado com dieta não suplementada, concluindo que os AFs podem ser utilizados como potente imunoestimulador.

McReynolds et al. (2009) ao trabalharem com frangos de corte desafiados com *C. perfringens*, relataram menores dos escores de lesão, mortalidade e contagem de *C. perfringens* no grupo alimentado com dieta suplementada com AFs (contendo mistura de óleos essenciais de orégano e citrus) em relação ao grupo não suplementado.

Mitsch et al. (2004) observaram diminuição concentração de *Clostridium perfringens* no jejuno, ceco, na cloaca e nas fezes de aves alimentadas com diferentes misturas de OEs com diferentes princípios ativos (timol, eugenol, curcumina, piperina; e timol, carvacrol, eugenol, curcumina e piperina). Intensa secreção de muco no proventrículo e parede do jejuno de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com mistura de EVs contendo os princípios ativos carvacrol, cinamaldeído e capsaicina foram relatadas por Jamroz et al. (2006) que atribuíram à este resultado a explicação para a redução da colonização de *E. coli*, *C. perfringens* e fungos no conteúdo intestinal de aves alimentadas com dieta suplementada com estes aditivos (JAMROZ et al., 2005).

O uso de EV de pimenta e de OEs de orégano, alecrim e canela foram eficazes na redução da infecção por *Clostridium perfringens* em frangos de corte desafiados com *Eimeria sp*, sendo que o grupo que recebeu OE mais EV teve redução no escore de lesão e na contagem bacteriana em relação ao grupo controle (VASCONCELOS et al., 2010).

Alguns estudos também relataram ação antifúngica dos AFs em aves. Segundo Soliman e Badea (2002), a ação antifúngica dos AFs ocorre pela interferência na

transferência de elétrons nas células, no metabolismo e divisão celular, inibindo enzimas de síntese da parede celular e, como consequência, inibindo o crescimento do fungo.

Ismail et al. (2001) observaram redução da população de *Y. lipolytica* encontrada em produtos avícolas, tais como aves cruas, marinados, defumados e assados, em meio de cultura, quando adicionado solução concentrada contendo extratos de manjeriço, manjerona, sálvia e tomilho.

Em meio de cultura, a adição de orégano moído, tomilho moído e seus extratos propiciaram diminuição da produção de aflatoxinas do *Aspergillus parasiticus* (SALMERON et al., 1990) e o óleo volátil do orégano inibiu completamente o crescimento dos micélios de *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp, e *Fusarium oxysporum* (DAOUK et al., 1995).

A ação dos AFs pode ocorrer, não só diretamente sobre os microrganismos, mas também estimulando o organismo a aumentar suas defesas contra esses patógenos. Yarru et al. (2009) validando o efeito da cúrcuma em pó sobre a expressão de genes hepáticos associados ao sistema imunológico e função antioxidante de frango de corte alimentados com dieta contendo aflatoxina, observaram melhora no desempenho, peso do fígado e na expressão dos genes estudados. Segundo estes autores, a suplementação cúrcuma em dietas pode prevenir ou reduzir os efeitos da aflatoxina em aves alimentadas com dietas contaminadas.

AFs também vêm sendo utilizado como agente anticoccidiano. Giannenas et al. (2003) observaram que aves desafiadas com *Eimeria tenella* e alimentadas com dieta suplementada com óleo de orégano, após duas semanas da infecção, apresentaram maior ganho de peso, melhor conversão alimentar, menores escores de lesão no epitélio intestinal que o grupo desafiado e não suplementado, porém com desempenho inferior ao grupo alimentado com dieta contendo anticoccidiano.

Christaki et al. (2004) ao estudarem a adição de mistura de extratos de agrimônia (*Agrimonia eupatoria*), equinácea (*Echinacea angustifolia*), groselha (*Ribes nigrum*) e quina vermelha (*Cinchona succirubra*) em dietas de frangos de corte infectados com *Emeria tenella*, observaram que após a infecção o desempenho das aves alimentadas com

os extratos foi superior ao das aves do grupo controle negativo e inferior ao das aves que receberam anticoccidiano na dieta.

Maior ganho de peso, menores escores de lesão e contagem de oocistos em frangos alimentadas com dieta suplementada com AFs (óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, extrato de curcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva) em relação ao grupo alimentado com dieta contendo antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano foram relatados por Miguel et al. (2009), após desafio com coccidiose. Os autores não observaram diferença entre os tratamentos antes do desafio com coccidiose aos 14 dias de idade e consideraram os aditivos fitogênicos estudados mais eficientes que os AMD e anticoccidianos.

Evans et al. (2001) observaram redução na excreção de oocistos em frangos desafiados com coccidiose e alimentados com dietas suplementada com mistura de OEs (cravo, tomilho, hortelã-pimenta, limão) em relação a àqueles alimentados com uma dieta não suplementada.

Segundo Oviedo-Rondón et al. (2006), mesmo com vacinação contra coccidiose há mudanças drásticas na microbiota de frangos de corte quando estes são desafiados com diferentes espécies de *Eimeria* e a suplementação com OEs evita estas grandes mudanças.

Devido a sua ação antioxidante, os AFs podem ser usados como alternativa ao BHT e BHA na adição de produtos cárneos e rações para a alimentação animal. Almeida-Doria e Reginato-D'Arce (2000) verificaram que a atividade antioxidante dos extratos de alecrim e orégano foram tão efetivas quanto à da mistura BHA+BHT sobre a oxidação do óleo de soja. Rotava et al. (2009) relataram que a atividade antioxidante do extrato de semente de uva desengordurada foi comparável à do ácido ascórbico.

Segundo Fellenberg et al. (2008), a adição de extrato seco de boldo em dietas de frangos de corte protege os tecidos da lipoperoxidação.

## 2.2. Efeito sobre o desempenho e digestibilidade

Autores sugerem que aditivos fitogênicos podem estimular a produção de enzimas digestivas e melhorar a utilização dos nutrientes pelos animais (WILLIAMS e LOSA, 2001).

Jang et al. (2007) relataram maior atividade de tripsina pancreática e maltase intestinal em aves alimentadas com dieta suplementada com OEs (timol como principal princípio ativo) em relação ao grupo controle e grupo alimentado com dieta contendo AMD, e maior atividade da enzima amilase pancreática em relação ao grupo controle.

A suplementação de dietas de frangos de corte com mistura de OEs de orégano, canela e pimenta melhoraram as características de desempenho e digestibilidade dos nutrientes (GARCÍA et al., 2007). Fascina et al. (2010b e 2010c) também verificaram melhora na digestibilidade dos nutrientes da dieta de frangos de corte quando suplementadas com óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, extrato de curcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva e ácidos orgânicos isolados ou associados.

Basmacioğlu Malayoğlu et al. (2010) relataram aumento no ganho de peso de frangos de corte aos 7 dias de idade e, aos 21 dias de idade, aumento da atividade da enzima quimiotripsina com melhora da digestibilidade da proteína bruta quando alimentados com dieta suplementada com OE de orégano.

Devido às propriedades aromáticas, vários aditivos fitogênicos têm potencial para estimular o consumo de ração (Ertas et al., 2005), porém especula-se que o aumento no consumo possa ser consequência de melhor digestão e não da maior palatabilidade (Applegate et al., 2010).

Cross et al. (2007) ao suplementarem dietas de frangos de corte com ervas e OEs de manjerona, alecrim, milefólio e tomilho, não observaram efeito sobre a microflora intestinal e digestibilidade de nutrientes, porém verificaram melhora no desempenho das aves alimentadas com dieta suplementada com OE de tomilho.

Avaliando a adição de mistura de OEs (orégano, canela e pimenta) e de EVs (sálvia, tomilho e alecrim) em dietas de frangos de corte, Hernández et al. (2004) observaram que aves alimentadas com EVs aos 21 dias de idade não diferiram das alimentadas com avilamicina para ganho de peso, porém com maior ganho de peso em relação ao tratamento com OEs. Não houve diferenças no consumo de ração entre os tratamentos.

Toledo et al. (2007) não encontraram diferenças no desempenho de frangos de corte na fase inicial e final de criação alimentados com antibiótico e/ou mistura de óleos essenciais de orégano, canela, eucalipto, artemísia e trevo.

Avaliando diferentes níveis de extrato de orégano em dietas de frangos de corte Fukayama et al. (2005) não observaram diferenças dos diferentes níveis de extrato de orégano, dieta sem aditivo e dieta com antibiótico promotor de crescimento sobre o desempenho das aves e morfometria de órgãos linfóides aos 21 e 42 dias de idade e sobre as características de carcaça aos 42 dias. Da mesma maneira, Barreto et al. (2008) avaliando a eficácia individual de diferentes extratos de plantas com seus respectivos óleos essenciais (canela - cinemaldeído, cravo - eugenol, orégano - carvacrol e pimenta vermelha - capsaicina) como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho não observaram diferença entre os tratamentos para desempenho de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.

Carrijo et al. (2005) observaram desempenho inferior de frangos de corte de 1 a 21 e de 1 a 42 dias de idade quando alimentadas com dietas com até 1,0% de alho em pó em substituição ao antibiótico promotor de crescimento. Para o rendimento de carcaça, peso relativo de órgãos e histomorfometria intestinal não foram observadas diferenças entre os aditivos.

Outros trabalhos não mostraram efeito dos aditivos fitogênicos sobre o desempenho de frangos de corte na fase inicial (SILVA et al., 2010), fase final e sobre o rendimento de carcaça (Santos et al., 2010a e b).

Rizzo et al. (2010) trabalhando com suplementação de dietas com várias misturas de AFs (óleos essenciais de cravo, tomilho, canela e pimenta; óleos essenciais sintéticos de orégano e canela mais óleo-resina de pimenta microencapsulados; óleo de eucalipto, óleo essencial de canela-da-china, folhas de boldo-do-chile e sementes de feno-grego) também não observaram nenhum efeito sobre o desempenho de frangos de corte, atribuindo à falta de efeito a ausência de desafios e a utilização de ingredientes de alta digestibilidade.

Por outro lado, Fascina et al. (2010a), alimentando frangos de corte com dietas contendo AFs (óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, extrato de curcuma, extratos de citros e extratos de

sementes de uva) e ácidos orgânicos isolados ou em associação, verificaram melhora no desempenho de frangos de corte aos 21 dias de idade, quando comparados com aves alimentadas sem suplementação de aditivos, porém com desempenho inferior ao das aves alimentadas com antibióticos melhoradores de desempenho. Avaliando o efeito da suplementação da dieta com mistura de OEs derivados do orégano, cravo e anis sobre o desempenho de frangos de corte, Ertas et al. (2005) observaram maior consumo de ração, aos 14 dias de idade, maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, em todas as fase de criação, no grupo alimentado com dieta suplementada em relação aos grupos controle e com antibiótico melhorador de desempenho.

Bozkurt et al. (2009) relataram melhoria na fertilidade, eclodibilidade, total de pintos e peso dos pintos ao nascerem quando a dieta de matrizes foi suplementada com mistura de OEs (óleo de orégano, de folhas de louro, de folhas de sálvia, de folhas de murta, de sementes de funcho e de casca de citrus).

Segundo Applegate et al. (2010), o efeito dos aditivos fitogênicos sobre a microflora e morfologia intestinal, digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, sobre o desempenho do animal, depende do nível de inclusão na dieta.

### **3. Frangos criados no sistema alternativo de produção**

Grupos de consumidores cada vez mais preocupados com o meio ambiente, o bem-estar dos animais e exigindo alimentos mais saudáveis com ausência de resíduos químicos, estimulam alguns produtores a adotarem o chamado sistema de produção de frangos alternativos, buscando atender às novas demandas do mercado em relação às exigências do consumidor.

O frango industrial ou convencional é ave de exploração intensiva, criada em granjas comerciais por meio de um modelo consagrado de manejo, cuja alimentação é constituída de ingredientes de origem vegetal e/ou animal, sem restrições ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos permitidos pela legislação brasileira, observando-se os períodos de retirada seguros para os animais, homem e meio ambiente.

O frango alternativo é uma ave de exploração intensiva, criada em menor densidade em sistema de integração no qual os produtores recebem da empresa os pintinhos, a ração e toda a assistência técnica necessária. Não há restrições quanto à linhagem, porém a dieta é isenta de antibióticos melhoradores de desempenho, anticoccidianos, quimioterápicos e ingredientes de origem animal, sendo permitida a homeopatia e o uso de produtos naturais. Como produtos substituto dos produtos químicos, podem ser incluídos à ração ácidos orgânicos e seus sais, prebióticos, probióticos, simbióticos e produtos de exclusão competitiva, adsorventes de micotoxinas, enzimas, extrato de plantas, pigmentantes e imunostimulantes naturais (DEMATTÊ FILHO e MENDES, 2001). Segundo Butolo (2003), o objetivo da produção do frango alternativo é a obtenção de produtos com atributos diferenciados e de qualidade certificada.

#### **4. Coccidiose aviária**

A coccidiose em aves é uma doença parasitária entérica causada por protozoários do gênero *Eimeria* e é considerada uma das doenças de maior importância econômica na avicultura, causando enterite e diarreia, diminuindo a absorção de nutrientes e gerando grandes perdas na produtividade (MORRIS e GASSER, 2006).

As espécies de *Eimeria* encontradas em frangos de corte, reprodutoras leves e pesadas são *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. máxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. preacox* e *E. tenella*, sendo que essas espécies diferem em grau de patogenicidade e localização da infecção. As espécies mais frequentes são *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* (COSTA, 2002).

As aves se infectam com as espécies de *Eimeria* quando ingerem água, ração ou cama contaminada com oocistos esporulados, contendo a forma infectante, o esporozoíto. O processo de liberação inicia-se pela ação mecânica da moela sobre a membrana do oocisto, com posterior estimulação dos esporozoítos pela temperatura corpórea, enzimas pancreáticas e sais biliares. Os esporozoítos invadem as células do intestino transformando-se em trofozoítos que, por sua vez, sofrem diversas divisões mitóticas formando uma célula alongada, o merozoíto. Os merozoítos invadem novas células hospedeiras e iniciam a fase

assexuada diferenciando-se em gametas e formando os oocistos que são liberados nas fezes (KAWAZOE, 2000).

As *Eimerias*, quando infectam as aves e desenvolvem-se nas células intestinais, causam modificações drásticas nas estruturas e aparência das vilosidades, destroem as células parasitadas, levam à diminuição da altura das vilosidades e área de superfície dos vilos, resultando em diminuição da capacidade de absorção. À medida que é destruído um grande número de células nas vilosidades intestinais, ocorre tentativa de reparo e reconstituição da mucosa através do processo de proliferação celular (sucessivas mitoses) na região das criptas (MAIORKA et al., 2002). A gravidade da coccidiose depende do número de oocisto ingeridos, do grau de virulência das cepas e da suscetibilidade do hospedeiro (LUQUETTI et al., 2006).

A coccidiose afeta principalmente aves jovens, pois a imunidade se desenvolve rapidamente (AFONSO, 2011). Segundo Long e Millard (1979), as aves adquirem imunidade após 2 semanas de exposição aos oocistos.

A *E. acervulina* ocupa o duodeno até a região mediana do intestino delgado. A *E. máxima* acomete principalmente a região do jejuno, mas também podem ocasionar lesões no duodeno e ílio. A *E. tenella* desenvolve-se nas células do ceco (KAWAZOE, 2000).

A coccidiose causada pela *E. acervulina* e *E. maxima*, embora sejam consideradas menos severas, são as que causam maiores prejuízos ao processo de digestão e absorção, pois grande área da região do duodeno e jejuno onde ocorre a maior parte da digestão e absorção de nutrientes (COLNAGO, 1999).

O diagnóstico de coccidiose geralmente é realizado pelo exame direto dos intestinos. As lesões por *E. acervulina* e *E. tenella* podem ser observadas macroscopicamente, enquanto que a *E. máxima* demanda exame histológico (KAWAZOE, 2000).

Como medida de controle da coccidiose, o uso de drogas anticoccidianas (ionóforos ou anticoccidianos químicos) é prática comum no sistema convencional de produção. Ionóforos alteram a permeabilidade da membrana celular do protozoário impedindo o desenvolvimento ou matando esporozoítos ou trofozoítos iniciais, possui também alguma atividade antibacteriana. Os mais usados são salinomicina, monensina, narasina, lasalocida,

maduramicina e semduramicina. Os anticoccidianos químicos não apresentam ação antibacteriana e são eficazes contra populações que não tiveram contato com o produto, porém o uso prolongado vem ocasionando o aparecimento de cepas resistentes a estes produtos. Os anticoccidianos químicos utilizados são nicarbazina, amprólio, diclazuril, robenidina, clopidol, decoquinato, zoalene e halofuginona. A nicarbazina e o clopidol estão sujeitos a restrições comerciais na Rússia e na China (AFONSO, 2011).

Em criações alternativas, onde o uso de quimioterápicos nas dietas dos animais é proibido, pode ser empregado o uso de vacinas vivas, mas apresentam o inconveniente de provocarem lesões no epitélio intestinal. Para produzir imunidade nas aves, é necessário que os parasitas completem seu ciclo de vida, que se inicia com a ingestão de um oocisto esporulado. Ao realizar esse ciclo, as *Eimerias* vacinais acabam por lesar a mucosa intestinal, fenômeno conhecido como “reação vacinal” (TOMASI, 2006), podendo gerar queda no desempenho da ave. Outro ponto negativo em relação às vacinas é que as mesmas podem não apresentar eficiência em todas as granjas devido à diversidade antigênica, ou seja, os isolados de *Eimerias spp.* presentes na vacina, podem ter origem de outras localizações geográficas e não conferir imunidade cruzada com as linhagens de *Eimerias* presentes na granja. Além disso, o uso inadequado de vacinas vivas tem causado surtos de coccidiose com disseminação de espécies de *Eimerias* que antes não existiam em determinada granja (KAWAZOE, 2000).

Com as crescentes restrições à quimioterapia profilática em animais de produção, somado aos inconvenientes relacionados ao uso das vacinas, faz-se necessário estudos de produtos naturais que possam controlar a coccidiose em aves.

O Capítulo 2, denominado “**ADITIVOS FITOGÊNICOS E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE ALTERNATIVOS**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Brazilian Journal of Poultry Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos, associados ou não, como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos, sobre desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte criados no sistema alternativo de produção.

O Capítulo 3, denominado “**ADITIVOS FITOGÊNICOS E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE ALTERNATIVOS DESAFIADOS COM *EIMERIA ACERVULINA***”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos, associados ou não, como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos, sobre desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina*.

O Capítulo 4, denominado “**AÇÃO TRÓFICA DOS ADITIVOS FITOGÊNICOS E DA GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO NA BURSA DE FABRÍCIUS E INTESTINO DELGADO DE FRANGOS DE CORTE**”, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na *Poultry Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos, associados ou não, sobre a histomorfometria da *Bursa de Fabricius* e intestino delgado, sobre contagem de oocistos e escores de lesão e sobre o *turnover* do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte experimentalmente infectadas com *Eimeria acervulina*.

## REFERÊNCIAS

ABI-AYADA, F. Z. et al. Antibacterial activity of essential oil extracted from leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters from *Algeria flora*. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2011.

ALBINA, J. E. et al. Glutamine metabolism in rat skeletal muscle wounded with a-carrageenan. **American Journal of Physiology**, v. 252, p. E49-E56, 1987.

AFONSO, M. Coccidiose em frangos. In CONFERÊNCIA FACTA 2011 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2011, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2011 p.291-292.

ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Antioxidant activity of rosemary and orégano ethanol extracts soybean oil under thermal oxidation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 197-203, 2000.

ALVES, P. C. C. et al. Determinação do nível ótimo de inclusão de fontes de glutamina na fase inicial de frangos de corte: Desempenho de 1 a 42 dias. In: 16 SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 2008. Disponível em: <<http://www.usp.br/siicusp/Resumos/16Siicusp/2176.pdf>>. Acessado em: 14 dez. 2010.

APPLEGATE, T. J. et al. Probiotics and phytochemicals for poultry: Myth or reality? **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, p. 194-210, 2010.

ARDAWI, M.S.M.; MAJZOUB, M.F. Glutamine metabolism in skeletal muscle of septic rats. **Metabolism**, v. 40, p. 155-164, 1991.

ARDAWI, M. S.; NEWSHOLME, E. A. Glutamine, the immune system, and the intestine. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 115, p. 654-655, 1990.

AVELLANEDA, Y. et al. Efecto de la suplementación del-glutaminyl-glutamato (Aminogut®) sobre el crecimiento temprano de pollos de engorde. **Revista Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 55, p. 77-90, 2008.

AW, T.Y.; WILLIAMS, M. W. Intestinal absorption and lymphatic transport of peroxidized lipids in rats: effect of exogenous GSH. **American Journal of Physiology**, v. 263, p. G665–G672, 1992.

AWAAD, M. H. H. et al. Immunostimulant Effects of Essential Oils of Peppermint and Eucalyptus in Chickens. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 30, n. 2, p. 61-66, 2010.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARRETO, M. S. R. et al. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, p. 109-115, 2008.

BASMACIOĞLU MALAYOĞLU, H. et al. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. **British Poultry Science**, v. 51, p. 67-80, 2010.

BARTELL, S. M.; BATAL, A. B. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 1940–1947, 2007.

BLIKSLAGER, A. T.; ROBERTS, C. Mechanisms of intestinal mucosa repair. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 9, p. 1437-1441, 1997.

BRENES, A.; ROURA. E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, v. 158, p. 1-14, 2010.

BOZKURT, M. et al. Effect of an herbal essential oil mixture on growth, laying traits, and egg hatching characteristics of broiler breeders. **Poultry Science** v. 88, p. 2368–2374, 2009.

BULUS, N. M.; ABUMRAD, N. N.; GHISHAN, F. K. Characteristics of glutamine transport in dog jejunal brush border membrane vesicles. **American Journal of Physiology**, v. 257, p. 80-85, 1989.

BURKE, D. J. et al. Glutamine- supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. **Archives Surgery**, v. 124, p. 1396–1399, 1989.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94. p. 223-253, 2004.

BUTOLO, J. E. Produção de frangos alternativos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel: CBNA, 2003, p. 75-82.

CEYLAN, E.; FUNG, D. Y. C. Antimicrobial activity of spices. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 1-55, 2004.

CARRIJO, A. S. et al. Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 673-679, 2005.

CHRISTAKI, E. et al. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. **Animal Research**, v. 53, p. 137–144, 2004.

- COLNAGO, G. L. A coccidiose como doença nutricional. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE AVIÁRIA, 2. 1999, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: FACTA, 1999. p.35-44.
- COSTA, C. A. F. Controle da coccidiose: possíveis avanços. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA da UFSM, 3.,2002. Santa Maria. **Anais...**, Santa Maria: UFSM, 2002. p.36-47.
- CRAWFORD, J.; COHEN, H. J. The essential role of glutamine in lymphocyte differentiation in vitro. **Journal of Cellular Physiology**, v. 124, p. 275-282, 1985.
- CROSS, D. E. et al. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, digestibility and gut microflora in chickens 7 to 28 days of age. **British Poultry Science**, v. 48, p. 496–506, 2007.
- CURI, R. et al. Glutamine, gene expression, and cell function. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 344-357, January 1, 2007.
- DAOUK, R. K.; DAGHER, S. M.; SATTOU, E. J. Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, v. 58, p. 1147-1149, 1995.
- DARMAUN, D.; HUMBERT, B. Does the fate of enterally administered glutamine depend on its molecular form? Bound versus free amino acid. **Nutrition**, v. 16, n. 11-12, p.1101-1102, 2000.
- DEMATTÊ FILHO, L. C.; MENDES, C. M. I. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.
- DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 308-316, 2000.
- ERTAS, O. N. et al. The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 11, p. 879-884, 2005.
- EVANS, J. W.; PLUNKETT, M. S.; BANFIELD, M. J. Effect of an essential oil blend on coccidiosis in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 80, p. 258 2001.
- FAUCONNEAU, B. COWEY, C. B.; MACKIE, A. M.; BELL, J. G. Protein synthesis and protein deposition in fish. In: **Nutrition and feeding in fish**. Orlando: Academic Press, p.17-46, 1985.
- FASCINA, V. B. et al.. Desempenho de frangos de corte na fase inicial alimentados com dietas contendo aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos. 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27 a 30 de julho de 2010 Salvador, BA. **Anais...** UFBA, 2010a. 1 CD Rom.

FASCINA, V. B. et al. Digestibilidade de nutrientes da dieta em frangos de corte alimentado com aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos na fase de crescimento. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS 2010, Santos, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2010b. 1 CD Rom.

FASCINA, V. B. et al. Digestibilidade de nutrientes em frangos de corte alimentados com aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos na fase inicial. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2010c. 1 CD Rom.

FASINA, Y. O. et al.. Effect of dietary glutamine supplementation on *Salmonella* colonization in the ceca of young broiler chicks. **Poultry Science**, v. 89, p. 1042–1048, 2010.

FELLENBERG, M. A. et al. Effect of Dried Extract of Boldo (*Peumus Boldus* Mol.) on Growth and Oxidative Tissue Status of Broiler Chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 4, p. 245-252, 2008.

FUKAYAMA, E. H. et al.. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6 (supl.), p. 2316-2326, 2005.

GARCÍA, V. et al. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, p. 555-562, 2007.

GIANNENAS, I. et al. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. **Archives of Animal Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 99-106, 2003.

GSTRAUNTHALER, G. et al. Differential expression and acid–base regulation of glutaminase mRNAs in gluconeogenic LLC-PK (1) – FBPase (b) cells. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 278, p. 227–237, 2000.

GUSTAFSON, R. H.; BOWEN, R. E. Antibiotic use in animal agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, p. 531-541, 1997.

HALL, J. C., HEEL, K., McCAULEY, R. Glutamine. **British Journal of Surgery**, v. 83, p. 305-312, 1996.

HAUSSINGER, D. Nitrogen metabolism in liver: structural-functional organization and physiological relevance. **Biochemistry Journal**; v. 267, p. 289-290, 1990.

HAUSSINGER, D.; GARF, D.; WEIERGRABER, O. H. Glutamine and cell signaling in liver. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2509S-2514S, 2001.

HAWKINS, A. J. S.; DAY, A. J. The metabolic basis of genetics differences in growth efficiency among marine animals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 203, p. 93-115, 1996.

HERNÁNDEZ, F. et al. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v. 83, p. 169-174, 2004.

INOUE, Y.; GRANT, J. P.; SNYDER, P. J. Effect of glutamine-supplemented intravenous nutrition on survival after *Escherichia coli* induced peritonitis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 17, p. 41-46, 1993.

ISMAIL, S. A. S. et al. Effectiveness of immersion treatments with acids, trisodium phosphate, and herb decoctions in reducing populations of *Y. Iipolytica* and naturally occurring aerobic microorganisms on raw chicken. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 13-19, 2001.

JAMROZ, D. et al. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl.)**, v. 90, p. 255-268, 2006.

JAMROZ, D. et al. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and domestic grains. **British Poultry Science**, v. 46, p. 485-493, 2005.

JANG, I. S. et al. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 304-315, 2007.

KHAN, J. et al. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. **Journal Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 23, p. 24-31, 1999.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: Berchieri, Jr., A.; Macari, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 391- 405.

KIMURA, R. E. et al. The effect of fasting on rat portal venous and aortic blood glucose, lactate, alanine and glutamine. **Pediatric Research**, v. 23, p. 241-244, 1988.

KOHLERT, C. et al. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. **Planta Medica**, v. 66, p. 495-505, 2000.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005, p. 21-33.

LANOJO, F. M.; TIRAPEGUI, J. Proteínas e aminoácidos. **Ciências Nutricionais**, Sarver, p. 41-69, 1998.

LACEY, J. M.; WILMORE, D. W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? **Nutrition Review**, v. 48, p. 297-309, 1990.

LIU, T. et al. Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age. Asian-Aust. **Journal of Animal Science**, v. 15, n. 2, p. 238-242, 2002.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S. O.; MCNEIL, C. J. Glutamine in animal science and production. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 255S-2531S, 2001.

LONG, P. L.; MILLARD, B. J. Eimeria: further studies on the immunisation of young chickens kept in litter pens. **Avian Pathology**, v. 8, n. 3, julho, p. 213-228, 1979.

LORA, A. G. et al. Níveis de inclusão de AminoGut® em rações para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2006, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2006, p. 118.

LOPES, K. L. A. M. Suplementação de glutamina em dietas iniciais para frangos de corte. 2008. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 73p., 2008.

LUQUETTI, B. C. et al. Coccidiose aviária e agentes tróficos. **Ciências Agrárias**, v. 6, p. 60-67, 2006.

MACLENNAN, P. A. et al. Inhibition of protein breakdown by glutamine in perfused rat skeletal muscle. **FEBS Letters**, v. 237, p. 133- 136, 1988.

MAIORKA, A. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 487-490, Belo Horizonte, Oct., 2000.

MAIORKA, A, BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. Cap. 8, p. 113-123.

MCREYNOLDS, J. et al. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. **Poultry Science**, v. 88, p. 2075-2080, 2009.

MEISTER, A. Catalytic mechanism of glutamine synthetase, overview of glutamine metabolism. In: MORA, J.; PALACIOS, R., eds. *Glutamine: metabolism, Enzymology and regulation*. New York: Academic Press, p.1-40, 1980.

MELDRUM, B. S.; GARTHWAITE, J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 11, p. 379-387, 1990.

MINAMI, H.; MORSE, E. L.; ADIBI, S. A. Characteristics and mechanism of glutamine-dipeptide absorption in human intestine. **Gastroenterology**, v. 103, n. 1, p. 3-11, 1992.

MITSCH, P. et al The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 669-675, 2004.

MIGUEL, F.; FRANCIS, C.; FRANÇOIS, R. Effet de l'utilisation de complexes d'extraits vegetaux chez le poulet en croissance, vaccine contre la coccidiose et challenge par une inoculation coccidienne a 14 jours. In: HUITIÈMES JOURNÉES DE LA RECHERCHE AVICOLE, 25 et 26 mars, 2009, St Malo, France. Disponível em: <[http://www.cabi.org/animalscience/Uploads/File/AnimalScience/additionalFiles/WPSAStMalo2009/48\\_fpd2009\\_forat.pdf](http://www.cabi.org/animalscience/Uploads/File/AnimalScience/additionalFiles/WPSAStMalo2009/48_fpd2009_forat.pdf)> Acesso em: 01 abr. 2011.

MORAES, G. H. K. et al. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição bioquímica parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 796-800, Viçosa, 2010.

MURAKAMI, A. E. et al. Supplementation of Glutamine and Vitamin E on the Morphometry of the Intestinal Mucosa in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 86, p. 488-495, 2007.

MURPHY, C.; NEWSHOLME, P. Macrophage-mediated lysis of a fibroblast cell line, turnout necrosis factor- $\alpha$  release from bacillus Calmette-Guerin (BCG)-activated murine macrophages and interleukin-8 release from human monocytes are dependent on extracellular glutamine concentration and glutamine metabolism. **Clinical Science**, v. 96, p. 89-97, 1999.

NEDOROSTOVA, L. et al. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. **Food Control**, v. 20, p. 157-160, 2009.

NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v. 21, p. 1-9, 2003a.

NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 2, p. 153-163, February, 2003b.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal of Nutrition**, v. 5, p. 2515S-2522S, 2001.

NEWSHOLME, P. et al. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 10, p. 316-24, 1999.

NEWSHOLME, P. et al. The importance of fuel metabolism to macrophage function. **Cell Biochemistry and Function**, v. 14, p. 1-10, 1996.

NEWSHOLME, E. A.; CRABTREE, B.; ARDAWI, M. S. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. **Bioscience Reports**, v. 5, n. 5, p. 393-400, May, 1985.

NOÉ, B et al. Regulation of taurocholate excretion by a hypoosmolarity-activated signal transduction pathway in rat liver. **Gastroenterology**, v. 110, p. 858-865, 1996.

NOGUEIRA, W. C. L. et al. Suplementação de Glutamina para frangos de corte de 1 a 21 dias criados em diferentes temperaturas ambientes. In: 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA Salvador, BA – UFBA, 27 a 30 de julho de 2010. 1CD Rom.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. et al. Intestinal Microbial Ecology of Broilers Vaccinated and Challenged with Mixed *Eimeria* Species, and Supplemented with Essential Oil Blends. **Poultry Science**, v. 85, p. 854-860, 2006.

OZAWA, S.; KAMIYA, H.; TSUZUKI, K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 54, p. 581-618, 1998.

PELTONEN, E.; PULKKI, K.; KIRVELA, O. Stimulatory effect of glutamine on human monocyte activation as measured by interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor release. **Clinical of Nutrition**, v. 16, p. 125-128, 1997.

PIERZYNOWSKI, S. G. et al. Glutamine in gut metabolism. In: PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K.E.B.; LINDBERG, J.E. **Gut Environment of Pigs**. Nottingham: University Press, 2001. p. 43-62.

PINKUS, L. M.; WINDMUELLER, H, G. Phosphate-dependent glutaminase of small intestine and localization and role in intestinal glutamine metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 182, p. 506-17, 1990.

PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K. E.; LINDBERG, J. E. Glutamine in gut metabolism. **Gut environment of pigs**, 2001, 260p.

PODOLSKY, D. K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, many questions. **Animal Journal Physiologic**, v. 264, p. G179-G186, 1993.

PORTEOUS, J. W. Glutamate, Glutamine, aspartate, Asparagine, Glucose and Ketone-Body Metabolism in Chick Intestinal Brush-Border Cells. **Biochemistry Journal**, v. 188, p. 619-632, 1980.

Produção Animal/Avicultura, **AVISITE**, nº 52, ano V, agosto, 2011, p. 60.

REEDS, P. J.; BURRIN, D. G. Glutamine and the bowel. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2505S -2508S, 2001.

REEDS, P. J. et al. Enteral glutamate is the preferential precursor for mucosal glutathione synthesis in the piglet. **American Journal of Physiology**, v. 273, p. E408–E415, 1997.

REEDS, P. J. et al. Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs. **Animal Journal Physiology**, v. 270, p. E413-E418, 1996.

RHOADS, J. M. et al. L-Glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. **American Journal of Physiology**, v. 272, p. G943–G953, 1997.

RIZZO, P. V. et al. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 4, p. 801-807, 2010.

ROMER, A. S.; PARSONS, T.S. **Anatomia Comparada dos Vertebrados**. São Paulo: Atheneu, 1985, 391p.

ROTA, C. et al. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants against Selected Foodborne Pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 6, p. 1252-1256, 2004.

ROTAVA, R. et al. Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 941-944, 2009.

RUBI, B. et al. GAD65-mediated glutamate decarboxylation reduces glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, p. 36391-36396, 2001.

SAKAMOTO, M. I. et al. Influência da glutamina e nucleotídeos sobre a morfometria intestinal em frangos de corte vacinados contra a coccidiose. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2010a. 1CD Rom.

SAKAMOTO, M. I. et al. Avaliação da glutamina e nucleotídeos sobre o desempenho de frangos de corte vacinados contra a coccidiose. In: 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA Salvador, BA – UFBA, 27 a 30 de julho de 2010b. 1 CD Rom.

SAKAMOTO, M. I. et al. Suplementação de glutamina puro e associado com ácido glutâmico em diferentes fases de criação para frangos de corte: desempenho. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS.Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2009; 1 CDRom.

SAKAMOTO, M. I. et al. Influência da glutamina e vitamina E sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2, São Paulo, 2005. **Anais...** São Paulo: CLANA/CBNA, 2005. 1 CD-ROOM.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**, 4a ed., Wadsworth Publishing Company, Belmont, 1992.

SALMERON, J.; JORDANO, R.; POZO, R. Antimycotic and antiaflatoxic activity of oregano (*Oreganum vulgare*, L.) and thyme (*Thymus vulgaris*, L.). **Journal of Food Protection**, v. 53, p. 697-700, 1990.

SANTOS, G. C. et al. Uso de aditivos alternativos em substituição aos convencionais sobre os parâmetros de desempenho de frangos de corte. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2010a. 1 CD Rom.

SANTOS, G. C. et al. Características de carcaça de frangos de corte alimentados com aditivos alternativos ao uso de antibióticos. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos, **Anais...** Campinas: FACTA, 2010b. 1 CD Rom.

SANTURIO, J. M. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

SILVA, F. A. et al. Efeito do ácido L-glutâmico e da vitamina D<sub>3</sub> no desempenho e nas anomalias ósseas de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 2059-2066, 2001.

- SILVA, A. V. F. et al. Inclusão de aditivos vegetais em dietas de frangos de corte. In: 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27 a 30 de julho de 2010 Salvador, BA. **Anais...** UFBA, 2010. 1 CD Rom.
- SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11 n. 3, p. 257-262, 2009.
- SMITH, K. A. Interleukin-2: inception, impact and implications. **Science**, v. 240, p. 1169-1176, 1988.
- SOLIMAN, K. M.; BADEA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p. 1669- 1675, 2002.
- SOUBA, W. W. et al. Gut glutamine metabolism. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 14(4 suppl.), p. 45S-50S, 1990a.
- SOUBA, W. W et al. The Role of Glutamine in Maintaining a Healthy Gut and Supporting the Metabolic Response to Injury and Infection. **JOURNAL OF Surgical Research**, v. 48, p. 383-391, 1990b.
- SOUBA, W. W. et al. Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. **The Journal of Surgical Research**. v. 48, n. 1, p. 1-5, jan, 1990c.
- SOUZA, L. F. A. te al. Estresse térmico e suplementação de glutamina para frangos de corte. In: 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27 a 30 de julho de 2010 Salvador, BA. **Anais...** UFBA, 2010a. 1 CD Rom.
- SPITTLER, A. et al. Glutamine deficiency impairs the function of cultured human monocytes. **Clinical of Nutrition**, v. 16, p. 97-99, 1997.
- STILBORN, H. L.; MORAN JR, E. T. Effect of added l-glutamic acid on male broiler performance when using wheat- or corn-based diets and 2 different anticoccidials. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 93, p. 401-414. 2010.
- STOLL, B. et al. Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets. **Americam Journal of Physiology**, v. 277, p. E168-E175, 1999.
- ULTEE, A. et al. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 5, p. 620-624, 2000.
- TANIZAWA, Y. et al. Unregulated elevation of glutamate dehydrogenase activity induces glutamine-stimulated insulin secretion. **Diabetes**, v. 51, p. 712-717, 2002.

TOLEDO, G. S. P. et al. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1760-1764, 2007.

TOMASI, P. H. D. **Avaliação de vacinas contra coccidiose e a utilização de peptídeos em frangos de corte**. 2006. 47f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 47p., 2006.

VASCONCELOS, S. P et al. Uso de óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de clostridioses em frangos de corte. In: CONFERENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2010, Santos. **Anais...** Campinas: FACTA, 2010. 1CD Rom.

VILA, R et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. **Planta Medica**, v. 65, p. 178-179, 1999.

WALLACE, C.; KEAST, D. Glutamine and macrophage function. **Metabolism**, v 41, p. 1016-1020, 1992.

WENDLER, K. R. Botânicos, da medicina tradicional a melhoradores de desempenho na produção animal. In: III CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, Foz do Iguaçu, 2006. **Anais...** São Paulo: USP, p. 213-224, 2006.

WILLIAMS, P.; LOSA, R. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v. 17, p. 14–15, 2001.

WILMORE, D. W.; SHABERT, J. K. Role of glutamine in immunologic responses. **Nutrition**, v. 14, p. 618–626, 1998.

WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. **Journal of Biology Chemistry**., v. 249, p. 5070–5079, 1974.

WINDMUELLER, H. G.; SPAETH, A. E. Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 71, p. 662–672, 1975.

WINNOCK, F. et al. Correlation between GABA release from rat islet  $\beta$ -cells and their metabolic state. **American Journal of Physiology**, v. 282, p. E937-E942, 2002.

WU, G.; MEIER, S. B.; KNABE, D. A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v. 126, p. 2578-2584, 1996.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1249-1252, 1998.

YARRU , L. P.; SETTIVARI , R. S.; GOWDA , N. K. S.; ANTONIOU , E.; LEDOUX, D. R.; ROTTINGHAUS, G. E. Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. **Poultry Science**, v. 88, p. 2620-2627, 2009.

YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes. **Nutrition**, v. 13, p. 646-651, 1997.

YI, G.F. et al. Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v. 84, p. 283-293, 2005a.

YI, G. F.; et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of *Escherichia coli* K88<sup>+</sup>-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 634-643, 2005b.

YOO, S. S.; FIELD, C. J.; MCBURNEY, M. I. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentrations and normalizes lymphocyte function in infected early weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 2253-2259, 1997.

YOUNG, V. R.; MARCHINI, J. S. Mechanisms and nutritional significance of metabolic responses to altered intakes of protein and amino acids, with reference to nutritional adaptation in human. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, n. 2, p. 270-289, 1990.

ZAVARIZE, K. C. **Glutamina e nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo**. 2008. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 40p., 2008.

ZHOU, F. et al. The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella* Typhimurium. **Journal of Food Safety**, v. 27, p. 124-133, 2007.

## **CAPÍTULO 2**

### **ADITIVOS FITOGÊNICOS E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE ALTERNATIVOS**

## **Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte alternativos**

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com aditivos fitogênicos (AFs) e glutamina mais ácido glutâmico (Gln/Glu), associados ou não, como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos (AMD/AC), sobre o desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte criados no sistema alternativo de produção. Foram alojados 500 pintos machos em galpão experimental na densidade de 10 aves/m<sup>2</sup>, conforme recomendação para criação alternativa de frangos de corte, os quais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos: dieta controle (DC); DC + AMD/AC; DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. Foram coletados dados de desempenho nos períodos acumulados de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Os dados de rendimento de carcaça e partes foram obtidos aos 42 dias de idade. Não houve efeito dos tratamentos para as variáveis de desempenho nos períodos analisados. O maior rendimento de carcaça ( $P < 0,05$ ) foi observado nos tratamentos DC + Gln/Glu e DC + Gln/Glu + AFs em relação ao DC, não diferindo do tratamento com AMD+AC e AFs que não diferiram entre si. O maior rendimento de peito ( $P < 0,05$ ) foi observado no tratamento DC + Gln/Glu em relação ao tratamento DC e AMD/AC, que não diferiram entre si, não diferindo dos demais tratamentos. Nas condições deste experimento, glutamina mais ácido glutâmico não diferem do controle e antibiótico melhorador de desempenho mais anticoccidiano quando se considera características de desempenho, porém melhoram o rendimento de carcaça e de peito de frangos de corte criados no sistema alternativo de produção.

**Palavras-chave:** antibióticos, anticoccidianos, desempenho, extratos vegetais, óleos essenciais

## **Phytogenics additives and glutamine added to glutamic acid in alternative broilers dietary**

### **ABSTRACT**

The objective of this work was evaluate the effect the diet supplementation with the phytogenics additives (AFs) and glutamine added glutamic acid (Gln/Glu), in association or not, as an alternative to antibiotic performance enhancers and anticoccidial drugs (AMD/AC), in the performance and carcass and parts yield of the broilers created in the alternative system of production. It was housed 500 male chicks in the experimental aviary, the density was 10 chicks/m<sup>2</sup>, corresponding the recommendation of alternative breeding of broilers, which was allotted to completely randomized design, with 5 treatments: control diet (DC), DC + AMD/AC; DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. The datas of performance was collected in the accumulated periods of 1 at 7, 1 at 21 and 1 at 42 days of age. The datas of carcass and parts yield was obtained at 42 days of age. Did not have effect of the treatment to the performance on analysed periods. The biggest carcass yield (P<0,05) was observed in the DC + Gln/Glu and DC + Gln/Glu + AFs treatment compared with DC, did not have difference with the AMD/AC and AF which did not differ between. The biggest breast yield (P<0,05) was observed in the DC + Gln/Glu treatment compared to DC and AMD/AC treatments, which did not differ between, did not have differences to others treatments. In the condition of this experiment, glutamine added glutamic acid do not differ from control and antibiotic performance enhancers and anticoccidial drugs when it is considered that features of performance, but improve the carcass and breast yield of broilers created in alternative system of production.

**Keywords:** antibiotics, anticoccidial, performance, plant extracts, essential oils

## INTRODUÇÃO

É crescente a preocupação da sociedade com a segurança e qualidade dos alimentos, bem como a pressão de mercados consumidores nacionais e internacionais contra o uso de antibióticos e quimioterápicos como profiláticos em doses subterapêuticas na alimentação animal, aumentando a demanda por produtos, da área avícola, denominados alternativos. O frango alternativo designa frango de produção intensiva, criado sem o uso de antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal, além de menor densidade de aves por metro quadrado (Demattê filho & Mendes, 2001). Em consequência, faz-se necessária a busca por aditivos naturais alternativos que possam atuar benéficamente sobre a flora intestinal das aves, protegendo contra agentes patogênicos, controlando ou prevenindo doenças e melhorando a eficiência da utilização dos nutrientes.

Efeitos benéficos da glutamina e ácido glutâmico, bem como dos aditivos fitogênicos (óleos essenciais e extratos vegetais) na resposta imune, na microflora e estrutura intestinal e no desempenho dos animais, vêm sendo observados por alguns pesquisadores, o que os tornam aditivos interessantes para criação de frangos de corte alternativos durante períodos de desafio.

Glutamina (Gln) e ácido glutâmico (Glu) têm sido reconhecidos como importantes substratos energéticos para células que se proliferam rapidamente, como células do sistema imune e células da mucosa intestinal (Windmueller & Spaeth, 1974; Newsholme *et al.*, 1985; Newsholme, 2001; Piva *et al.*, 2001; Newsholme *et al.*, 2003a e b), além de participar da estrutura de proteínas e peptídeos e Gln ser utilizada para síntese de outros aminoácidos e para síntese de nucleotídeos (WU, 1998).

Bartel & Batal (2007) observaram maior concentração de anticorpos em frangos alimentados com dieta suplementada com Gln em relação a animais recebendo dieta não suplementada. Com o nível de 1% de Gln suplementada nas dietas de frangos de corte, Maiorka *et al.* (2000), Sakamoto *et al.* (2005) e Murakami *et al.* (2007) observaram efeitos benéficos da glutamina sobre o

desenvolvimento da mucosa intestinal na primeira semana de vida, aumentando a capacidade funcional da mesma, o que pode propiciar melhor desempenho das aves em função da maior capacidade da digestão e absorção dos nutrientes.

Lora *et al.* (2006) avaliaram a inclusão de diferentes níveis de AminoGut® (produto a base de glutamina e ácido glutâmico), sobre o desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade e criados sobre cama reutilizada. Os autores observaram maior ganho de peso para frangos que receberam rações com os níveis de inclusão de 0,5; 1,0 e 1,5% em relação ao grupo controle, no período de 1 a 42 dias de idade. O maior índice de eficiência produtiva foi obtido no nível de 1,0% de inclusão de AminoGut®.

Aditivos fitogênicos (AFs) constituem-se de produtos derivados de plantas - extratos vegetais (EVs) e óleos essenciais (OEs). As propriedades terapêuticas destes produtos (princípios ativos) têm sido retratadas principalmente sobre a atividade antimicrobiana (McCreynolds *et al.*, 2009), anticoccidiana (Miguel *et al.*, 2009), e de melhora da digestibilidade dos nutrientes e do desempenho de frangos de corte (García *et al.*, 2007; Fascina *et al.*, 2010a e b).

Em função do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com aditivo fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico, associados ou não, como alternativas aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos, sobre desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte criados sobre cama reutilizada.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal. Foram alojados, 500 pintos de corte machos de 1 dia de idade da linhagem Cobb sobre cama a ser reutilizada por duas vezes, com distribuição de 25 aves/boxe, na densidade de 10 aves/m<sup>2</sup>, conforme recomendação para criação alternativa de frangos de corte (Demattê Filho &

Mendes, 2001). Os pintos foram vacinados no incubatório contra doença de Marek, Gumboro e Bouda aviária. Aos 8 e 14 dias de idade todas as aves receberam vacina reforço contra Gumboro, Cevac Gumbo L<sup>®</sup> e Cevac IBD L<sup>®</sup> (Ceva Santé Animale), respectivamente.

O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições de 25 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de dieta controle isenta de ingredientes de origem animal e de antibiótico melhorador de desempenho + anticoccidiano (DC); DC + antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano (AMD/AC); DC + glutamina + ácido glutâmico (Gln/Glu); DC + aditivos fitogênicos (AFs) e DC + Gln/Glu + AFs.

O antibiótico utilizado foi o Surmax<sup>®</sup> com inclusão de 100g/ton (Avilamicina: 10ppm de inclusão) e o anticoccidiano foi o Monenpac<sup>®</sup> com inclusão de 25g/ton (Monensina: 100ppm de inclusão). Como fonte de glutamina e ácido glutâmico foi utilizado o AminoGut<sup>®</sup> (garantia mínima de 10% de glutamina e 10% de ácido glutâmico) com inclusão de 1,0% nas fases de 1 a 21 dias de idade e 0,5% nas fases de 22 a 42 dias de idade. Os aditivos fitogênicos utilizados foram o Imunostart<sup>®</sup> composto de extrato de cúrcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva, com inclusão de 700g/ton de 1 a 10 dias de idade; 500g/ton de 11 a 21 dias de idade e o Enterocox<sup>®</sup> composto de óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Fenogregó, com inclusão de 300g/ton de 1 a 10 dias de idade, 1000g/ton de 11 a 35 dias de idade e 500g/ton de 36 a 42 dias de idade.

A inclusão do AminoGut<sup>®</sup> nas rações foi realizada em substituição ao amido de milho por apresentarem valores energéticos semelhantes e a inclusão dos demais aditivos em substituição ao material inerte (caulim) de acordo com as recomendações dos fabricantes.

O período de criação foi dividido em quatro fases: pré-inicial, inicial, crescimento e final e as rações formuladas para cada fase de acordo com as tabelas de exigências nutricionais das aves de Rostagno *et al.* (2005) como mostra a Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.

<b>Ingredientes</b>	<b>Pré inicial 1 a 7 dias</b>	<b>Inicial 8 a 14 dias</b>	<b>Crescimento 15 a 21 dias</b>	<b>Final 22 –a 42 dias</b>
Milho	55,174	58,107	61,661	65,929
Amido	1,000	1,000	0,500	0,500
Farelo de soja	37,365	34,600	30,870	26,940
Óleo de soja	1,974	2,272	3,197	3,110
NaCl	0,520	0,500	0,480	0,450
Supl. Vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,050
Supl. Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,910	0,880	0,830	0,790
Fosfato bicálcico	1,950	1,809	1,670	1,520
DL-metionina	0,240	0,175	0,175	0,170
L-lisina	0,375	0,210	0,230	0,275
L-treonina	0,155	0,060	0,060	0,075
Cloreto de colina <sup>3</sup>	0,060	0,060	0,050	0,040
Caulim <sup>4</sup>	0,125	0,175	0,125	0,100
<i>Valores calculados</i>				
EM (kcal/kg)	2950,03	3000,03	3100,00	3150,03
PB (%)	22,04	20,79	19,41	18,03
Cálcio (%)	0,94	0,89	0,83	0,76
Fósforo disp. (%)	0,47	0,44	0,41	0,38
Metionina (%)	0,57	0,49	0,48	0,45
Met + Cys (%)	0,91	0,82	0,79	0,75
Lisina (%)	1,46	1,26	1,18	1,12
Treonina (%)	0,99	0,86	0,81	0,76
Potássio (%)	0,84	0,80	0,74	0,68
Sódio (%)	0,22	0,22	0,21	0,20
Cloro (%)	0,36	0,34	0,33	0,31
Ác. linoléico (%)	2,32	2,52	3,06	3,06

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração): vit. A, 11.000 UI; vit. D<sub>3</sub>, 2.000 UI; vit. E, 16 mg; vit. K<sub>3</sub>, 1,5 mg; B<sub>1</sub>, 1,2 mg; vit. B<sub>2</sub>, 4,5 mg; vit. B<sub>6</sub>, 2 mg; vit. B<sub>12</sub>, 16 mcg; niacina, 35 mg; ac. fólico, 0,4 mg; ác. pantotênico, 10 mg; biotina, 60 µg; selênio, 250 µg. (fases pré-inicial, inicial e crescimento); vit. A, 5.500 UI; vit. D<sub>3</sub>, 1.000 UI; vit. E, 8 mg; vit. K<sub>3</sub>, 0,75 mg; B<sub>1</sub>, 0,6 mg; vit. B<sub>2</sub>, 2,25 mg; vit. B<sub>6</sub>, 1 mg; vit. B<sub>12</sub>, 8 µg; niacina, 17,5 mg; ac. fólico, 0,2 mg; ác. pantotênico, 5 mg; biotina, 30 µg; selênio, 125 µg. (fase final). <sup>2</sup> Suplemento mineral MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração); iodo, 1000 µg; ferro, 30 mg; cobre, 9 mg; manganês, 60 mg; zinco, 60 mg. <sup>3</sup>Cloreto de colina (70). <sup>4</sup>Veículo em substituição aos aditivos.

Os dados de desempenho foram obtidos e analisados nos períodos acumulados de 1 a 7; 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Para tanto, foram colhidas e calculadas as seguintes variáveis: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade e fator de produção.

Aos 42 dias de idade foram retiradas ao acaso 20 aves por tratamento, as quais foram submetidas a jejum de oito horas e abatidas por meio de sangria, após insensibilização por choque elétrico. Para cálculo de rendimento de carcaça, foi tomado como base o peso vivo na plataforma, imediatamente antes do abate, e o peso da carcaça eviscerada e resfriada, sem cabeça, pescoço e pés. Os rendimentos de peito e pernas (coxa e sobrecoxa) foram calculados em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Os dados obtidos foram tabulados e analisados com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SPSS<sup>®</sup> versão 13.0 (2004) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS**

Não houve efeito dos tratamentos sobre as variáveis de desempenho nos períodos acumulados de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade (Tabela 2).

Houve efeito dos tratamentos para rendimento de carcaça e de peito (Tabela 3). O maior rendimento de carcaça ( $P < 0,05$ ) foi observado nos tratamentos DC + Gln/Glu e DC + Gln/Glu + AFs em relação ao DC, não diferindo do tratamento com AMD/AC e AFs que não diferiram entre si. O maior rendimento de peito ( $P < 0,05$ ) foi observado no tratamento DC + Gln/Glu em relação ao tratamento DC e AMD/AC, que não diferiram entre si, não diferindo dos demais tratamentos.

**Tabela 2.** Valores médios de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade (VB) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos, nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.

Variáveis	DC <sup>1</sup>	DC+ AMD/AC <sup>2</sup>	DC+ Gln/Glu <sup>3</sup>	DC+ AFs <sup>4</sup>	DC+Gln/ Glu+AFs	CV%	P
<b>1 a 7 dias de idade</b>							
GP, g	111,05	109,15	109,90	109,06	111,90	3,65	0,895
CR, g	133,82	126,99	132,74	126,38	129,41	4,28	0,363
CA	1,208	1,173	1,205	1,163	1,160	2,68	0,208
VB, %	100,00	98,00	100,00	97,00	99,00	2,22	0,341
<b>1 a 21 dias de idade</b>							
GP, g	899,49	892,32	896,70	901,13	902,62	3,33	0,987
CR, g	1249,07	1234,94	1249,07	1237,41	1238,95	2,92	0,850
CA	1,405	1,390	1,395	1,385	1,390	2,27	0,939
VB, %	99,00	98,00	99,00	96,00	97,00	2,84	0,563
<b>1 a 42 dias de idade</b>							
GP, g	2887,64	2875,58	2916,54	2906,53	2898,77	3,41	0,991
CR, g	4920,67	4835,65	4937,24	4877,28	4856,67	3,31	0,983
CA	1,710	1,692	1,695	1,693	1,705	1,86	0,909
VB, %	98,00	95,00	97,00	95,00	93,00	3,74	0,323
FP <sup>5</sup>	393,80	384,38	397,62	388,75	376,37	4,49	0,450

<sup>1</sup> DC = Dieta controle isenta de antibiótico melhorador de desempenho (AMD) e anticoccidiano (AC). <sup>2</sup> DC+ adição de AMD (Avilamicina) e AC (Monensina). <sup>3</sup> DC mais glutamina e ácido glutâmico. <sup>4</sup> DC mais aditivos fitogênicos. <sup>5</sup> Fator de Produção = ((GPD x Viabilidade)/CA)\*100. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, dentro de cada variável, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

**Tabela 3.** Valores médios de rendimento de carcaça e partes de frangos de corte, segundo os tratamentos, aos 42 dias de idade.

Variáveis (%)	DC <sup>1</sup>	DC+ AMD/AC <sup>2</sup>	DC + Gln/Glu <sup>3</sup>	DC+ AFs <sup>4</sup>	DC+Gln/Glu +AFs	CV%	P
Carcaça <sup>5</sup>	73,35b	74,44ab	74,66a	74,10ab	74,73a	2,11	0,045
Asas <sup>6</sup>	10,20	10,20	9,93	10,05	10,17	4,85	0,333
Peito <sup>6</sup>	39,01b	38,95b	40,33a	39,34ab	39,54ab	3,90	0,026
Pernas <sup>6</sup>	29,00	29,01	28,38	28,94	28,53	3,76	0,292
Dorso <sup>6</sup>	21,37	21,53	21,00	21,22	21,35	5,60	0,855

<sup>1</sup> DC = Dieta controle isenta de antibiótico melhorador de desempenho (AMD) e anticoccidiano (AC). <sup>2</sup> DC+ adição de AMD (Surmax<sup>®</sup>) e AC (Monempac<sup>®</sup>). <sup>3</sup> DC mais glutamina e ácido glutâmico. <sup>4</sup> DC mais aditivos fitogênicos. <sup>5</sup> Porcentagem em relação ao peso vivo. <sup>6</sup> Porcentagem em relação à carcaça eviscerada. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, dentro de cada variável, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

## DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo corroboram os de outros autores que também não observaram efeito sobre o desempenho de 1 a 7 dias (MIGUEL *et al.*, 2009), 1 a 21 dias (Hernández *et al.*, 2004; Toledo *et al.*, 2007; Barreto *et al.*, 2008) e 1 a 42 dias de idade (Fukayama *et al.*, 2005; Toledo *et al.*, 2007; Barreto *et al.*, 2008) ao suplementarem dietas de frangos de corte com AFs. Porém, no período de 1 a 42 dias de idade, Christaki *et al.* (2004), trabalhando com frangos desafiados com coccidiose, observaram desempenho superior em aves alimentadas com dieta suplementada com aditivos fitogênicos em comparação às aves do grupo controle negativo, com desempenho inferior às aves que receberam dieta contendo anticoccidiano. Já Miguel *et al.* (2009), observaram melhores resultados de desempenho, de 1 a 42 dias de idade, em aves desafiadas com coccidiose e alimentadas com os mesmos AFs deste experimento, em relação às aves do tratamento controle negativo e, inclusive, em relação às alimentadas com dieta contendo antibióticos melhoradores de desempenho.

Avaliando o efeito da glutamina e ácido glutâmico, Sakamoto *et al.* (2010) observaram menor consumo (CR) e melhor conversão alimentar (CA) de 1 a 7 dias de idade, maior ganho de peso (GP) e melhor CA de 1 a 21 dias de idade e menor CR de 1 a 42 dias de idade em aves alimentadas com dieta suplementada com 3,0% da mesma mistura Gln/Glu em relação ao grupo controle. Lora *et al.* (2006) não observaram influência da adição de Gln/Glu sobre CR e CA aos 42 dias de idade, porém, observaram maior GP para os frangos que receberam rações com os níveis de inclusão de 0,5; 1,0 e 1,5% em relação ao grupo controle. Alves *et al.* (2008) relataram que a suplementação da dieta de frangos de corte com glutamina pura ou associada ao ácido glutâmico melhora o desempenho de frangos de corte, recomendando níveis de 1,5% de L-Gln e 3,0% de Gln/Glu. Neste experimento a inclusão de Gln/Glu foi de 1,0% na fase pré e inicial e 0,5% na fase de crescimento e final, podendo estes níveis de inclusão serem insuficientes para afetar o desempenho das aves. Os resultados de desempenho

deste estudo podem estar associado a falta de desafio, já que nenhum tratamento diferiu do controle.

Os melhores rendimentos de carcaça e peito observado nas aves que receberam dietas suplementadas com glutamina mais ácido glutâmico pode estar associado ao fato de a glutamina participar da estrutura de proteínas e peptídeos, ser utilizada para síntese de outros aminoácidos, purinas e pirimidinas, constituintes básicos dos nucleotídeos, componentes das moléculas de DNA e RNA (Newsholme *et al.*, 2003a e b), essenciais para síntese de proteínas. A glutamina, além de estimular a síntese protéica no músculo, possui efeito inibitório sobre a quebra de proteínas musculares (Maclennan *et al.*, 1988). Portanto, a glutamina, pode atuar como um regulador metabólico aumentando a síntese de proteína e reduzindo o catabolismo protéico se suplementada na dieta (Lobley *et al.*, 2001). Estudos revelam que existe correlação positiva entre a concentração de glutamina livre e a taxa de síntese protéica no músculo esquelético (Souba *et al.*, 1990). Ou seja, quanto maior a concentração de glutamina circulante, maior a taxa de síntese de proteína, o que poderia explicar os resultados deste estudo.

Outros pesquisadores não observaram efeito sobre o rendimento de carcaça e partes ao adicionarem AFs (Sheuermann *et al.*, 2009) ou Gln/Glu (Alves *et al.*, 2008) nas dietas de frangos de corte.

## **COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA**

A pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ - UNESP, Campus de Botucatu (protocolo n. 07/2009 - CEEA).

## **CONCLUSÕES**

Nas condições deste experimento, glutamina mais ácido glutâmico não diferem do controle e antibiótico melhorador de desempenho mais anticoccidiano quando se considera características de desempenho, porém melhoram o rendimento de carcaça e de peito de frangos de corte criados no sistema alternativo de produção.

## REFERÊNCIAS

Alves PCC, Sakamoto, MI, Souza HRB, Kikuchi CG, Previero TC, Faria DE. Determinação do nível ótimo de inclusão de fontes de glutamina na fase inicial de frangos de corte: Desempenho de 1 a 42 dias. In: 16º Simpósio Internacional de Iniciação científica da USP; 2008; Piracicaba, São Paulo, Brasil. Piracicaba: SIICUSP, 2008. 1 CD Rom.

Barreto MSR, Menten JFM, Racamicci AMA, Pereira PWZ, Rizzo PV. Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* 2008;10:109-115.

Bartell SM, Batal AB. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. *Poultry Science* 2001; 86:1940–1947.

Christaki E, Florou-Paneri P, Giannenas I, Papazahariadou M, Botsoglou NA, Spais AB. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research* 2004; 53:137–144.

Demattê Filho LC, Mendes CMI. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2001; Campinas, São Paulo, Brasil. Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.

Fascina VB, Sartori JR, Carvalho FB, Demattê Filho LC, Polycarpo GV, Souza IMG. Desempenho de frangos de corte na fase inicial alimentados com dietas contendo aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos. 47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2010, Salvador, Bahia, Brasil. UFBA, 2010a. 1CD Rom.

Fascina VB, Sartori JR, Carvalho FB, Pereira LA, Carrijo AS, Araujo PC. Digestibilidade de nutrientes da dieta em frangos de corte alimentado com aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos na fase de crescimento. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2010, Santos, São Paulo, Brasil. Campina: FACTA, 2010b. 1 CD Rom.

Fukayama EH, Bertechini AG, Geraldo A, Kato RK, Murgas LDS. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2005; 34(6):2316-2326.

García V, Catalá-Gregori P, Hernández F, Megías MD, Madrid J. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 2007; 16:555-562.

Hernández F, Madrid J, García V, Orengo J, Megías MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Science* 2004; 83:169-174.

Lobley GE, Hoskin SO, Mcneil CJ. Glutamine in animal science and production. *Journal of Nutrition* 2001; 131:255S-2531S.

Lora AG, Albino LFT, Rostagno HS, Páez LE Gattás G, Messias RKG. Níveis de inclusão de AminoGut® em rações para frangos de corte. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2006, Santos, São Paulo, Brasil. Campinas: FACTA, 2006. 1CD Rom.

Maiorka A, Silva AVF, Santin E, Borges AS, Boleli IC, Macari M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2000; 52(5):487-490.

Maclennan PA, Smith K, Weryk B Watt PW, Rennie MJ. Inhibition of protein breakdown by glutamine in perfused rat skeletal muscle. *FEBS Letters* 1988; 237:133- 136.

Mcreynolds J, Waneck C, Byrd J, Genovese K, Duke S, Nisbet D. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. *Poultry Science* 2009; 88:2075-2080.

Miguel F, Francis C, François R. Effet de l'utilisation de complexes d'extraits vegetaux chez le poulet en croissance, vaccine contre la coccidiose et challenge par une inoculation coccidienne a 14 jours. In: Huitièmes Journées de la Recherche Avicole; 2009, St Malo, France. 2009.

Murakami AE, Sakamoto MI, Natali MRM, Souza LMG, Franco JRG. Supplementation of Glutamine and Vitamin E on the Morphometry of the Intestinal Mucosa in Broiler Chickens. *Poultry Science* 2007; 86:488–495.

Newsholme P, Procopio J, Lima MMR, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochemistry and Function* 2003a; 21:1-9.

Newsholme P, Lima MMR, Procopio J, Pithon-Curi TC Doi SQ, Bazotte RB, Curi R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2003b; 36(2):153-163.

Newsholme P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition* 2001; 5:2515S-2522S.

Newsholme EA, Crabtree B, Ardawi MS. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. *Bioscience Reports* 1985; 5(5):393-400.

Piva A, Bach Knudsen KE, Lindberg JE. Glutamine in gut metabolism. *Gut environment of pigs* 2001; 260p.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais* 2005. Viçosa: UFV, 186p.

Sakamoto MI, Faria DE, Nakagl VS, Souza KMR, Araújo RB, Hosotani, G. Avaliação da glutamina e nucleotídeos sobre o desempenho de frangos de corte vacinados contra a coccidiose. In: 47<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2010, Salvador, Bahia, Brasil. UFBA, 2010. 1 CD Rom.

Sakamoto MI, Murakami AE, Natali RM, Fernandes JM, Souza LMG. Influência da glutamina e vitamina e sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. In: Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal; 2005, São Paulo, Brasil, São Paulo: ALANA/CBNA, 2005. 1 CD-ROOM.

Silva AVF, Oliveira JP, Sens RF, Sócrates MRB, Anjos AS, Borges SA. Inclusão de aditivos vegetais em dietas de frangos de corte. In: 47<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2010, Salvador, Bahia, Brasil. UFBA, 2010. 1 CD Rom.

Souba WW, HERSKOWITZ K, SALLOUM RM et al. Gut glutamine metabolism. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1990; 14(4):45S-50S.

Sheuermann GN, Junior AC, Cyprino L, Gabbi AM. Phytogenic additive as an alternative to growth promoters in broiler chickens. *Ciência Rural* 2009; 39:552-527.

SPSS 13.0 for Windows. Release 13.0 (1 Sep. 2004). SPSS Inc. Chicago.

Toledo GSP, Costa PTC, Silva LP, Pinto D, Ferreira P, Poletto CJ. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. *Ciência Rural* 2007; 37(6):1760-1764.

Windmueller HG, Spaeth A. E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *Journal of Biology Chemistry* 1974; 249:5070–5079.

Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition* 1998; 128:1249-1252.

## **CAPÍTULO 3**

**ADITIVOS FITOGÊNICOS E GLUTAMINA MAIS ÁCIDO  
GLUTÂMICO NA DIETA DE FRANGOS DE CORTE  
ALTERNATIVOS DESAFIADOS COM *EIMERIA ACERVULINA***

**Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos de corte  
alternativos desafiados com *Eimeria acervulina***

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com aditivos fitogênicos (AFs) e glutamina mais ácido glutâmico (Gln/Glu), como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos (AMD/AC), sobre o desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina*. As aves do tratamento DC + Vacina foram vacinadas contra coccidiose no terceiro dia de idade. Foram distribuídos 600 pintos machos em seis tratamentos: dieta controle (DC); DC + Vacina de coccidiose; DC + AMD/AC; DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. As aves do tratamento DC + Vacina foram vacinadas via água de bebida, aos três dias de idade, contra coccidiose. Com 16 dias de idade, as aves foram inoculadas via ração com 500.000 oocistos de *Eimeria acervulina* por ave. Aos 21 dias de idade, as aves do tratamento AMD/AC apresentaram maior ganho de peso ( $P < 0,05$ ) em relação às aves dos tratamentos DC + Vacina e DC + Gln/Glu, não diferindo dos demais tratamentos. A melhor conversão alimentar (CA) ( $P < 0,05$ ) foi observada para aves do tratamento AMD em relação às aves dos tratamentos DC + Vacina, DC + AFs e DC + Gln/Glu + AFs. Aos 42 dias de idade as aves do tratamento DC + AFs apresentaram maior consumo de ração ( $P < 0,05$ ) em relação às aves do tratamento DC + Gln/Glu, não diferindo dos demais tratamentos. A melhor CA ( $P < 0,05$ ) foi encontrada para o grupo de aves do tratamento DC+AMD/AC em relação às do DC + Vacina, não havendo diferença em relação aos demais tratamentos. Não houve diferença para as variáveis de rendimento de carcaça e partes. De modo geral, os melhores resultados de desempenho ocorreram para as aves dos tratamentos contendo AFs e AMD/AC. A adição de aditivos fitogênicos, associados ou não à glutamina mais ácido glutâmico, na dieta de frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina*, pode substituir o antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano em criações alternativas.

**Palavras-chave:** aditivos, coccidiose, desempenho, extratos vegetais, óleos essenciais.

**Phytogenics additives and glutamine added to glutamic acid in alternative broilers dietary challenged with *Eimeria acervulina***

**ABSTRACT**

The objective of this work was evaluate the effect of the diet supplementation with the phytogenics additives (AFs) and glutamine added glutamic acid (Gln/Glu), as an alternative to antibiotic performance enhancers and anticoccidial drugs (AMD/AC), in the performance and carcass and parts yield of broiler challenged with *Eimeria acervulina*. The broiler of the DC+Vaccine treatment was vaccinated against coccidiosis in the third day of age. It was allotted 600 male chicks in six treatments: control diet (DC); DC + Vaccine against coccidiosis; DC + AMD/AC; DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. The chicks of the DC + Vaccine treatment was vaccinated through drinking water, at three days of age, against coccidiosis. At 16 days of age, the broilers were inoculated through ration with 500.000 oocysts of *Eimeria acervulina* per broiler. At 21 days of age, the broilers of AMD/AC treatment had the greater weight gain ( $P<0,05$ ) in comparison the broiler of DC + Vaccine and DC + Gln/Glu, did not differ to the other treatments. The best conversion feed ratio (CA) ( $P<0,05$ ) was observed to broiler of AMD treatment compared to the broilers of the DC + Vaccine, DC + AFs e DC + Gln/Glu + AFs. At 42 days of age the broiler of DC + AFs treatment showed greater ration consumption ( $P<0,05$ ) in relation to the broilers DC + Gln/Glu, did not differ to the other treatments. The best CA ( $P<0,05$ ) was found to the broiler groups to DC+AMD/AC treatment in comparison to DC + Vaccine treatment, did not have differences in relation to the other treatments. Did not have difference to carcass and parts yield variables. Generally, the best results of performance was to the broilers of AFs and AMD/AC treatments. The phytogenics additives addition, in association or not to glutamine added glutamic acid, in the broiler diets challenged with *Eimeria acervulina*, can replace the antibiotic performance enhancers and anticoccidial drugs in alternative breeding.

**Keywords:** additives, coccidiosis, performance, plant extracts, essential oils

## INTRODUÇÃO

Antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos têm sido utilizados nas dietas dos animais com a finalidade de controlar agentes prejudiciais ao processo de digestão e absorção dos nutrientes, promovendo melhoras nos índices zootécnicos e de produção. Porém, a segurança no uso de antibióticos como profilático na alimentação animal passou a ser questionada pela possibilidade dos microrganismos patogênicos adquirirem resistência aos mesmos<sup>7</sup>, o que poderia trazer conseqüências prejudiciais a saúde humana.

A União Européia, um dos mais exigentes mercados consumidores de proteína animal, ainda autoriza a utilização de anticoccidianos químicos na dieta dos animais, porém a pressão por parte dos consumidores e grupos ativistas a favor da proibição total de qualquer antimicrobiano como melhorador de desempenho na produção de animais destinados ao consumo humano ainda é grande. Sendo assim cresce a demanda por produtos avícolas denominados alternativos.

O frango alternativo designa frango de produção intensiva, criado sem o uso de antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos e sem uso de ingredientes de origem animal, além de menor densidade de aves por metro quadrado<sup>4</sup>. Com a restrição ao uso dos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos na alimentação destes animais, tornando-se necessária a busca por aditivos naturais que, adicionados à dieta, auxiliem a superar desafios sanitários.

Pesquisas têm demonstrado que aditivos fitogênicos, glutamina e ácido glutâmico são capazes de melhorar a flora intestinal e a estrutura do intestino, com conseqüente melhora da absorção dos nutrientes e do desempenho dos animais, o que os tornam suplementos interessantes para criação de frangos de corte alternativo.

Glutamina e ácido glutâmico (ou glutamato) têm sido reconhecidos como importantes substratos energéticos para células que se proliferam rapidamente, como células do sistema imune e células da mucosa intestinal<sup>14,15,16</sup>, além de participar da síntese de proteína, outros aminoácidos e ainda ser utilizada para síntese de purinas e pirimidinas, constituintes básicos dos nucleotídeos<sup>26</sup>, importantes no processo de proliferação celular e formação de tecidos.

Yi et al.<sup>27</sup> e Lopes<sup>9</sup> relataram aumento da altura dos vilos e diminuição dos efeitos deletérios sobre as células da mucosa intestinal de frangos desafiados com coccidiose quando alimentados com dieta suplementada com glutamina, podendo implicar em melhor absorção de nutrientes. Segundo Alves et al.<sup>1</sup> e Avellaneda et al.<sup>2</sup> a suplementação da dieta com glutamina associada a ácido glutâmico melhora o desempenho de frangos.

Vários pesquisadores têm relatado atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* dos aditivos fitogênicos (extratos vegetais e óleos essenciais)<sup>10,11,13,18,20</sup>. Miguel et al.<sup>12</sup> observaram, após o desafio com coccidiose, maior ganho de peso, menores escores de lesão no epitélio intestinal e menor contagem de oocistos em frangos alimentadas com dieta suplementada com aditivos fitogênicos (óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, extrato de cúrcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva) em relação ao grupo alimentado com dieta contendo antibiótico melhorador de desempenho (bacitracina) e anticoccidiano (salinomicina).

Além da ação antimicrobiana, autores sugerem que aditivos fitogênicos podem estimular a produção de enzimas digestivas melhorando a utilização dos nutrientes<sup>25</sup>.

Sabe-se que a coccidiose aviária, causada por espécies do gênero *Eimeria*, é uma doença infecciosa de grande importância econômica, pois resulta em lesões no epitélio intestinal, prejudicando a digestão e absorção de nutrientes e, conseqüentemente, o desempenho e a eficiência alimentar das aves.

Em função do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação da dieta com aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico, associados ou não, como alternativa aos antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos, sobre desempenho e rendimento de carcaça e partes de frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal. Foram alojados, em galpão experimental de 24 boxes de 2,5m<sup>2</sup>, 600 pintos de corte machos

de 1 dia de idade da linhagem Cobb sobre cama nova de maravalha, com distribuição de 25 aves/boxe, na densidade de 10 aves/m<sup>2</sup>, conforme recomendação para criação alternativa de frangos de corte<sup>4</sup>. Os pintos foram vacinados no incubatório contra doença de Marek, Gumboro e Bouba aviária. Aos 8 e 14 dias de idade todas as aves receberam vacina reforço contra Gumboro, Cevac Gumbo L<sup>®</sup> e Cevac IBD L<sup>®</sup> (Ceva Santé Animale).

O delineamento foi inteiramente casualizado contendo 6 tratamentos e quatro repetições de 25 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de dieta controle isenta de ingredientes de origem animal e aditivos antimicrobianos melhoradores de desempenho (DC); DC + Vacina contra coccidiose; DC + antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano (AMD/AC); DC + glutamina + ácido glutâmico (Gln/Glu); DC + aditivos fitogênicos (AFs) e DC + Gln/Glu + AFs.

As aves do tratamento Controle + Vacina foram vacinadas via água de bebida, aos três dias de idade, contra coccidiose (Livacox<sup>®</sup>).

O antibiótico utilizado foi o Surmax<sup>®</sup> com inclusão de 100g/ton (Avilamicina: 10ppm de inclusão) e o anticoccidiano foi o Monenpac<sup>®</sup> com inclusão de 25g/ton (Monensina: 100ppm de inclusão). Como fonte de glutamina e ácido glutâmico foi utilizado o AminoGut<sup>®</sup> (garantia mínima de 10% de glutamina e 10% de ácido glutâmico) com inclusão de 1,0% nas fases de 1 a 21 dias de idade e 0,5% nas fases de 22 a 42 dias de idade. Os aditivos fitogênicos utilizados foram o Imunostart<sup>®</sup> composto de extrato de cúrcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva, com inclusão de 700g/ton de 1 a 10 dias de idade; 500g/ton de 11 a 21 dias de idade e o Enterocox<sup>®</sup> composto de óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Fenogregó, com inclusão de 300g/ton de 1 a 10 dias de idade, 1000g/ton de 11 a 35 dias de idade e 500g/ton de 36 a 42 dias de idade.

A inclusão do AminoGut<sup>®</sup> nas rações foi realizada em substituição ao amido de milho por apresentarem valores energéticos semelhantes e a inclusão dos demais aditivos em substituição ao material inerte (caulim) de acordo com as recomendações dos fabricantes.

O período de criação foi dividido em quatro fases: pré-inicial, inicial, crescimento e final e as rações formuladas para cada fase de acordo com as tabelas de exigências nutricionais das aves de Rostagno et al.<sup>17</sup>, como mostra a Tabela 1.

Aos 16 dias de idade, foi fornecida para cada unidade experimental quantidade de ração a ser consumida no mesmo dia com oocistos de *Eimeria acervulina* de modo que cada ave ingerisse em torno de 500.000 oocistos, dose definida por Williams<sup>24</sup> para causar moderadas lesões no epitélio intestinal das aves.

Os dados de desempenho foram obtidos e analisados nos períodos acumulados de 1 a 7; 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade. Para tanto, foram colhidas e calculadas as seguintes variáveis: ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, viabilidade e fator de produção.

Aos 42 dias de idade foram retiradas ao acaso 20 aves por tratamento, as quais foram submetidas a jejum de oito horas e abatidas por meio de sangria, após insensibilização por choque elétrico. Para cálculo de rendimento de carcaça, foi tomado como base o peso vivo na plataforma, imediatamente antes do abate, e o peso da carcaça eviscerada e resfriada, sem cabeça, pescoço e pés. Os rendimentos de peito e pernas (coxa e sobrecoxa) foram calculados em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Os dados obtidos foram tabulados e analisados com auxílio do procedimento GLM do programa estatístico SPSS<sup>®</sup> 22 e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 1.** Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.

<b>Ingredientes</b>	<b>Pré inicial 1 a 7 dias</b>	<b>Inicial 8 a 21 dias</b>	<b>Crescimento 22 a 35 dias</b>	<b>Final 36 a 42 dias</b>
Milho	55,174	58,107	61,661	65,929
Amido	1,000	1,000	0,500	0,500
Farelo de soja	37,365	34,600	30,870	26,940
Óleo de soja	1,974	2,272	3,197	3,110
NaCl	0,520	0,500	0,480	0,450
Supl. Vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,050
Supl. Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,910	0,880	0,830	0,790
Fosfato bicálcico	1,950	1,809	1,670	1,520
DL-metionina	0,240	0,175	0,175	0,170
L-lisina	0,375	0,210	0,230	0,275
L-treonina	0,155	0,060	0,060	0,075
Cloreto de colina <sup>3</sup>	0,060	0,060	0,050	0,040
Caulim <sup>4</sup>	0,125	0,175	0,125	0,100
<b>Valores calculados</b>				
EM (kcal/kg)	2950,03	3000,03	3100,00	3150,03
PB (%)	22,04	20,79	19,41	18,03
Cálcio (%)	0,94	0,89	0,83	0,76
Fósforo disp. (%)	0,47	0,44	0,41	0,38
Metionina (%)	0,57	0,49	0,48	0,45
Met + Cys (%)	0,91	0,82	0,79	0,75
Lisina (%)	1,46	1,26	1,18	1,12
Treonina (%)	0,99	0,86	0,81	0,76
Potássio (%)	0,84	0,80	0,74	0,68
Sódio (%)	0,22	0,22	0,21	0,20
Cloro (%)	0,36	0,34	0,33	0,31
Ác. linoléico (%)	2,32	2,52	3,06	3,06

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração): vit. A, 11.000 UI; vit. D<sub>3</sub>, 2.000 UI; vit. E, 16 mg; vit. K<sub>3</sub>, 1,5 mg; B<sub>1</sub>, 1,2 mg; vit. B<sub>2</sub>, 4,5 mg; vit. B<sub>6</sub>, 2 mg; vit. B<sub>12</sub>, 16 µg; niacina, 35 mg; ac. fólico, 0,4 mg; ác. pantotênico, 10 mg; biotina, 60 µg; selênio, 250 µg. (fases pré-inicial, inicial e crescimento); vit. A, 5.500 UI; vit. D<sub>3</sub>, 1.000 UI; vit. E, 8 mg; vit. K<sub>3</sub>, 0,75 mg; B<sub>1</sub>, 0,6 mg; vit. B<sub>2</sub>, 2,25 mg; vit. B<sub>6</sub>, 1 mg; vit. B<sub>12</sub>, 8 µg; niacina, 17,5 mg; ac. fólico, 0,2 mg; ác. pantotênico, 5 mg; biotina, 30 µg; selênio, 125 µg. (fase final). <sup>2</sup> Suplemento mineral MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração): iodo, 1000 µg; ferro, 30 mg; cobre, 9 mg; manganês, 60 mg; zinco, 60 mg. <sup>3</sup> Cloreto de colina (70). <sup>4</sup> Veículo em substituição aos aditivos.

## RESULTADOS

Os resultados de desempenho estão apresentados na Tabela 2. No período de 1 a 7 dias de idade não houve efeito dos tratamentos sobre as variáveis de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB).

No período de 1 a 21 dias de idade foi observada diferença estatística, entre os tratamentos, para as variáveis de GP e CA. As aves alimentadas com dieta contendo AMD/AC apresentaram maiores ( $P<0,05$ ) GP em relação às aves do tratamento DC + Vacina e DC + Gln/Glu. Estes dois grupos não diferiram dos demais tratamentos, nem os demais entre si. A melhor CA ( $P<0,05$ ) foi observada para as aves alimentadas com dieta contendo AMD em relação às aves dos tratamentos DC + Vacina, DC + AFs e DC + Gln/Glu + AFs. A CA das aves dos tratamentos DC e DC + Gln/Glu não diferiram entre si e nem dos demais tratamentos.

Aos 42 dias de idade foi observada diferença estatística, entre os tratamentos, para as variáveis de CR, CA e FP. As aves do tratamento DC + AFs apresentaram maior CR ( $P<0,05$ ) em relação às aves do tratamento DC + Gln/Glu, sendo que estes dois grupos não diferiram dos demais tratamentos, nem os demais entre si. A melhor CA ( $P<0,05$ ) no período de 1 a 42 dias de idade foi encontrada para o grupo de aves do tratamento DC + AMD/AC em relação às do DC + Vacina, não havendo diferença em relação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si. O maior FP ( $P<0,05$ ) foi observado para o tratamento DC + AMD/AC em relação ao tratamento DC + Gln/Glu, sendo que estes dois não diferiram dos demais tratamentos e nem os demais entre si.

Não houve diferença para as variáveis de rendimento de carcaça e partes (Tabela 3).

**Tabela 2.** Valores médios de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), viabilidade (VB) e fator de produção (FP) de frangos de corte, segundo os tratamentos, nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.

Variáveis	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina	DC+ AMD/AC <sup>2</sup>	DC+ Gln/Glu <sup>3</sup>	DC+ AFs <sup>4</sup>	DC+Gln/ Glu+AFs	CV%	P
<b>1 a 7 dias de idade</b>								
GP, g	137,45	136,75	135,12	136,88	141,01	137,99	2,25	0,247
CR, g	157,70	155,10	154,90	155,21	163,23	162,23	4,57	0,740
CA	1,148	1,136	1,149	1,134	1,161	1,182	5,49	0,914
VB, %	100	100	99	100	99	99	1,42	0,820
<b>1 a 21 dias de idade</b>								
GP, g	773,28ab	759,53b	819,12a	745,04b	784,22ab	775,15ab	2,18	0,002
CR, g	1177,36	1176,80	1202,97	1137,19	1210,72	1189,81	3,19	0,235
CA	1,536ab	1,549b	1,469a	1,526ab	1,556b	1,552b	2,06	0,014
VB, %	96	100	99	100	97	96	2,72	0,480
<b>1 a 42 dias de idade</b>								
GP, g	2818,21	2821,90	2883,94	2733,21	2910,14	2882,23	2,87	0,157
CR, g	4864,87a	4920,41ab	4927,86ab	4682,59b	5018,91a	4847,22ab	2,31	0,030
CA	1,743ab	1,771b	1,711a	1,740ab	1,744ab	1,742ab	1,28	0,046
VB, %	95	95	99	95	95	93	2,97	0,262
FP <sup>5</sup>	365,72ab	360,41ab	397,30a	355,30b	377,43ab	366,37ab	4,12	0,049

<sup>1</sup> DC = Dieta controle isenta de antibiótico melhorador de desempenho (AMD). <sup>2</sup>DC+ adição de AMD (Surmax<sup>®</sup>) e anticoccidiano (Monempac<sup>®</sup>). <sup>3</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico. <sup>4</sup>DC mais aditivos fitogênicos. <sup>5</sup>Fator de Produção = ((GPD x Viabilidade)/CA)\*100. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, dentro de cada variável, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

**Tabela 3.** Valores médios de rendimento de carcaça e partes de frangos de corte, segundo os tratamentos, aos 42 dias de idade.

Variáveis (%)	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina	DC+ <sup>2</sup> AMD/AC	DC + Gln/Glu <sup>3</sup>	DC+ AFs <sup>4</sup>	DC+Gln/ Glu+AFs	CV%	P
Carcaça <sup>5</sup>	72,62	73,42	73,55	72,53	73,17	72,84	2,51	0,571
Asas <sup>6</sup>	10,54	10,66	10,53	10,79	10,61	10,92	6,60	0,568
Peito <sup>6</sup>	37,75	38,21	38,77	38,37	38,56	38,38	4,03	0,376
Pernas <sup>6</sup>	30,12	30,26	30,33	30,20	30,15	30,03	3,73	0,971
Dorso <sup>6</sup>	21,59	21,03	20,79	20,74	20,91	20,70	5,13	0,171

<sup>1</sup> DC = Dieta controle isenta de antibiótico melhorador de desempenho (AMD). <sup>2</sup>DC+ adição de AMD (Surmax<sup>®</sup>) e anticoccidiano (Monempac<sup>®</sup>). <sup>3</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico. <sup>4</sup>DC mais aditivos fitogênicos. <sup>5</sup>Porcentagem em relação ao peso vivo. <sup>6</sup>Porcentagem em relação à carcaça eviscerada. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha, dentro de cada variável, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

## DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho no período acumulado de 1 a 7 dias de idade corroboram os de Miguel et al.<sup>12</sup> que também não observaram efeito dos mesmos AFs sobre as variáveis de desempenho nesta fase de criação. No período acumulado de 1 a 21 dias, o pior resultado de CA das aves dos tratamentos com AFs em relação às aves do tratamento com AMD/AC deferem dos de Barreto et al.<sup>3</sup>, Hernández et al.<sup>8</sup> e Toledo et al.<sup>23</sup> que não observaram diferenças para GP e CA entre aves alimentadas com dieta suplementada com AFs e AMD/AC. Neste período os resultados de desempenho das aves dos tratamentos com Gln/Glu e com AFs não diferem do controle. Por outro lado, outros autores observaram maior GP e melhor CA em aves que receberam dieta suplementada com a mesma mistura de Gln/Glu<sup>19</sup> e com os mesmos AFs deste experimento<sup>6</sup> em relação ao controle.

Como as aves foram inoculadas com *E acervulina* aos 16 dias de idade e sendo o ciclo desta *Eimeria* aproximadamente 5 dias de duração, somente a partir de 21 dias de idade estariam surgindo as lesões no epitélio intestinal das aves. Sendo assim, para o período de 1 a 21 dias de idade, não era esperado observar ação anticoccidiana dos aditivos estudados. O pior desempenho observado para o tratamento DC + vacina pode estar associado à reação vacinal que acabam por lesar a mucosa intestinal das aves podendo gerar queda no desempenho.

No período acumulado de 1 a 42 dias de idade, o maior CR pelas aves do tratamento DC + AFs pode estar associado à maior palatabilidade da ração, devido as propriedades aromáticas, que segundo Ertas et al.<sup>5</sup> tem potencial para estimular o consumo dos animais. Apesar de não haver diferença estatística, observamos melhores resultados de GP nas aves dos tratamentos contendo AFs e AMD/AC. Miguel et al.<sup>12</sup> também observaram resultados superiores de desempenho em aves desafiadas com coccidiose e alimentadas com os mesmos AFs deste experimento, em relação ao controle e, inclusive, em relação às aves alimentadas com AMD/AC. Alves et al.<sup>1</sup> relataram que a suplementação da dieta de frangos de corte com glutamina pura ou associada a ácido glutâmico melhora o desempenho de frangos de corte, recomendando níveis de 1,5% de L-Gln e 3,0% da mesma mistura comercial de Gln/Glu. Neste experimento a inclusão de Gln/Glu foi de 1,0% na

fase pré e inicial e 0,5% na fase de crescimento e final, podendo este nível de inclusão ter sido insuficiente para afetar o desempenho das aves.

De modo geral, no período de 1 a 42 dias de idade, observou-se melhores resultados de desempenho para as aves dos tratamentos contendo AFs e AMD/AC.

Com relação as variáveis de rendimento, outros autores também não observaram efeito sobre o rendimento de carcaça e partes ao adicionarem AFs<sup>21</sup> ou Gln/Glu<sup>1</sup> nas dietas de frangos de corte.

### COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

A pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ - UNESP, Campus de Botucatu (protocolo n. 07/2009 - CEEA).

### CONCLUSÕES

Adição de aditivos fitogênicos, associados ou não a glutamina mais ácido glutâmico, na dieta de frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina*, pode substituir os antibióticos melhoradores de desempenho e anticoccidianos no sistema alternativo de produção.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALVES, P.C.C.; SAKAMOTO, M.I.; SOUZA, H.R.B.; KIKUCHI, C.G.; PREVIERO, T.C.; FARIA, D.E. Determinação do nível ótimo de inclusão de fontes de glutamina na fase inicial de frangos de corte: Desempenho de 1 a 42 dias. In: 16º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP. 2008. Disponível em: <<http://www.usp.br/siicusp/Resumos/16Siicusp/2176.pdf>>. Acessado em: 14 dez. 2010.
- 2 - AVELLANEDA, Y.; HERNÁNDEZ, J.; ARIZA, C.; AFANADOR, T. Efecto de la suplementación del glutaminayl-glutamato (AminoGut<sup>®</sup>) sobre el crecimiento temprano de pollos de engorde. **Revista de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.77-90, 2008.
- 3 - BARRETO, M.S.R.; MENTEN, J.F.M.; RACAMICCI, A.M.A.; PEREIRA, P.W.Z.; RIZZO, P.V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.10, p.109-115, 2008.

- 4 - DEMATTÊ FILHO, L. C.; MENDES, C. M. I. Viabilidade técnica e econômica na criação alternativa de frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.255-266.
- 5 - ERTAS, O.N.; GÜLER, T.; ÇIFTÇI, M.; DALKILIÇ, B.; SIMSEK, Ü.G. The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.11, p.879-884, 2005.
- 6 - FASCINA, V.B.; SARTORI, J.R.; CARVALHO, F.B.; DEMATTÊ FILHO, L.C.; POLYCARPO, G.V., Souza, I.M.G.P. Desempenho de frangos de corte na fase inicial alimentados com dietas contendo aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos. 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27 a 30 de julho de 2010 Salvador, BA. **Anais...** UFBA, 2010. 1 CD Rom.
- 7 - GUSTAFSON, R.H.; BOWEN, R.E. Antibiotic use in animal agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, v.83, p.531-541, 1997.
- 8 - HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; GARCÍA, V.; ORENGO, J.; MEGÍAS, M.D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Science**, v. 83, p. 169-174, 2004.  
LOPES, K.L.A.M. Suplementação de glutamina em dietas iniciais para frangos de corte. 2008. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 73p., 2008.
- 9 - LOPES, K.L.A.M. Suplementação de glutamina em dietas iniciais para frangos de corte. 2008. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 73p., 2008.
- 10 - MITSCH, P.; ZITTERL-EGLESEER, K.; KÖHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 669-675, 2004.
- 11 - MCREYNOLDS , J.; WANECK , C.; BYRD , J.; GENOVESE , K.; DUKE , S.; NISBET, D. Efficacy of multistrain direct-fed microbial and phytogetic products in reducing necrotic enteritis in commercial broilers. **Poultry Science**, v.88, p.2075-2080, 2009.
- 12 - MIGUEL, F.; FRANCIS, C.; FRANÇOIS, R. Effet de l'utilisation de complexes d'extraits vegetaux chez le poulet en croissance, vaccine contre la coccidiose et challenge par une inoculation coccidienne a 14 jours. In: HUITIÈMES JOURNÉES DE LA RECHERCHE AVICOLE, 2009, St Malo, France. Disponível em:

<[http://www.cabi.org/animalscience/Uploads/File/AnimalScience/additionalFiles/WPSAStMalo2009/48\\_fpd2009\\_forat.pdf](http://www.cabi.org/animalscience/Uploads/File/AnimalScience/additionalFiles/WPSAStMalo2009/48_fpd2009_forat.pdf)> Acesso em: 01 abr. 2011.

13 - NEDOROSTOVA, L.; KLOUCEK, P.; KOKOSKA, L.; STOLCOVA, M.; PULKRABEK, J. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. **Food Control**, v.20, p.157-160, 2009.

14 - NEWSHOLME, P.; PROCOPIO, J.; LIMA, M.M.R.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v.21, p. 1-9, 2003a.

15 - NEWSHOLME, P.; LIMA, M. M. R.; PROCOPIO, J.; JPITHON-CURI, T. C.; DOI, S. Q.; BAZOTTE, R. B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36(2), p.153-163, February, (Review) 2003b.

16 - PIVA, A.; BACH KNUDSEN, K.E.; LINDBERG, J.E. Glutamine in gut metabolism. **Gut environment of pigs**, 260p, 2001.

17 - ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 2005. 186p.

18 - ROTA, C.; CARRAMIÑANA, J.J.; BURILLO, J.; HERRERA, A. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants against Selected Foodborne Pathogens. **Journal of Food Protection**, v.67, n.6, p.1252-1256, 2004.

19 - SAKAMOTO, M.I.; FARIA, D.E.; NAKAGI, V.S.; SOUZA, K.M.R.; ARAÚJO, R.B.; HOSOTANI, G. Avaliação da glutamina e nucleotídeos sobre o desempenho de frangos de corte vacinados contra a coccidiose. In: 47<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA 2010, Salvador, BA. **Anais...** UFBA, 2010. 1 CD Rom.

20 - SILVA, M.T.N.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N.; CUNHA, M.L.R.S.; FERNANDES JUNIOR, A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.3, p.257-262, 2009.

21 - SHEUERMANN, G.N.; JUNIOR, A.C.; CYPRINO, L.; GABBI, A.M. Phytogetic additive as an alternative to growth promoters in broiler chickens. **Ciência Rural**, v.39, p. 552-527, 2009.

22 - SPSS 13.0 for Windows. Release 13.0 (1 Sep. 2004). SPSS Inc.

- 23 - TOLEDO, G.S.P.; COSTA, P.T.C.; SILVA, L.P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETTO, C.J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1760-1764, 2007.
- 24 - WILLIAMS R.B. Quantification of the crowding effect during infections with the seven *Eimeria* species of the domesticated fowl: its importance for experimental designs and the production of oocyst stocks. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.1056–1069, 2001.
- 25 - WILLIAMS, P.; LOSA, R. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. **World's Poultry Science Journal**, v.17, p.14–15, 2001.
- 26 - WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition*, v.128, p.1249-1252, 1998.
- 27- YI,G.F.; ALLEE,G.L.; KNIGHT, C.D.; DIBNER, J.J. Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v.84, p.283-293, 2005.

## **CAPÍTULO 4**

**AÇÃO TRÓFICA DOS ADITIVOS FITOGÊNICOS E DA  
GLUTAMINA MAIS ÁCIDO GLUTÂMICO NA *BURSA DE  
FABRÍCIUS* E INTESTINO DELGADO DE FRANGOS DE CORTE**

**Ação trófica dos aditivos fitogênicos e da glutamina mais ácido glutâmico na *Bursa de Fabricius* e intestino delgado de frangos de corte**

**RESUMO** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos aditivos fitogênicos (AFs) e da glutamina mais ácido glutâmico (Gln/Glu), associados ou não, sobre a histomorfometria da *Bursa de Fabricius* e intestino delgado, sobre contagem de oocistos e escores de lesão e sobre o *turnover* do carbono da mucosa intestinal de frangos de corte experimentalmente infectadas com *Eimeria acervulina*. Para isso foram utilizados 450 pintos de corte machos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e três repetições. Os tratamentos consistiram de dieta controle (DC); DC + Vacina de coccidiose; DC + antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano (AMD/AC); DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. As aves do tratamento DC + Vacina foram vacinadas via água de bebida, aos três dias de idade, contra coccidiose. Aos 16 dias de idade todas as aves de todos os tratamentos foram inoculadas oralmente e individualmente com 500.000 oocistos de *Eimeria acervulina*. Não houve efeito dos tratamentos para escore de lesão no epitélio intestinal das aves. O menor número de oocistos excretados foi observado nos grupos de aves alimentadas com dieta contendo AMD/AC e AFs. Foram observados melhores resultados para altura das vilosidades e profundidade das criptas do duodeno e ílio das aves dos tratamentos contendo Gln/Glu, aos 7 dias de idade e Gln/Glu e AFs aos 21 dias de idade. Maior porcentagem de área cortical dos folículos bursais foi observada em aves alimentadas com dieta suplementada com Gln/Glu e AFs aos 7, 14 e 21 dias de idade. Maior *turnover* da mucosa intestinal foi observada em aves dos tratamentos contendo Gln/Glu, indicando aceleração do desenvolvimento e regeneração do tecido lesado. Glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos podem oferecer melhorias à estrutura e, conseqüentemente, à função do intestino, bem como melhores condições para resposta imune frente à desafios infecciosos. Aditivos fitogênicos podem ser utilizados no controle da coccidiose em criações de frangos de corte alternativos.

**Palavra-chave:** aditivos alternativos, coccidiose, escores de lesão, isótopos estáveis, *turnover*.

**Trophic effect of phytogenics additives and glutamine added glutamic acid on the Bursa of Fabricius and small intestine in broilers**

**ABSTRACT** The objective of the work was evaluate the effect of the phytogenics additives (AFs) and glutamine added glutamic acid (Gln/Glu), in association or not, on *Bursa of Fabricius* and small intestine histomorphometry, on oocysts count and lesion scores and on carbon turnover of intestinal mucosa of broiler experimentally infected with *Eimeria acervulina*. It was used 450 male broilers allotted to completely randomized design, with six treatments and three repetitions. The treatment was control diet (DC); DC + Coccidiosis vaccine; DC + antibiotic performance enhancers (AMD/AC); DC + Gln/Glu; DC + AFs; DC + Gln/Glu + AFs. The chicks of DC + Vaccine treatment was vaccinated through drinking water, at three days of age, against coccidiosis. At 16 days of age, all the broilers was orally inoculated with 500.000 oocysts of *Eimeria acervulina*. Did not have effect of treatments to lesion scores in intestinal epithelium of broilers. The lowest number of excretated oocysts was observed in groups of broiler fed with AMD/AC e AFs diets. It was observed best results for villus height and depth of crypts for duodenum and ileum of broilers of Gln/Glu, at 7 days and to Gln/Glu and AFs at 21 days of age. The higher percentage of cortical area of bursa follicles was observed in broiler with supplemented diet with Gln/Glu and AFs at 7, 14 and 21 days of age. The higher intestinal mucosa turnover was observed in broilers of Gln/Glu treatment, indicating development accelerating and regeneration of damage tissue. Glutamine added glutamic acid and phytogenics additives can offer improvements to structure improvements and, consequently, to intestine function, as well as improvements to immune response ahead infectious challenges.

**Keywords:** alternative additives, coccidiosis, lesion score, stable isotopes, turnover.

## INTRODUÇÃO

A integridade das células epiteliais da mucosa gastrintestinal é de vital relevância para o bom desempenho das aves (Maiorka et al., 2002). Distúrbios na microbiota normal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, patógenos ou substâncias químicas, podem alterar a permeabilidade desta barreira natural, facilitando a invasão de patógenos e outras substâncias nocivas, diminuindo a capacidade de digestão e absorção de nutrientes e causando ainda inflamações crônicas na mucosa intestinal (Podolsky, 1993).

Com a finalidade de controlar agentes prejudiciais aos processos de digestão e absorção dos nutrientes, antibióticos e quimioterápicos têm sido adicionados nas dietas dos animais, promovendo melhoras nos índices zootécnicos e de produção. Porém, diante da crescente proibição da utilização de antibióticos e da pressão por parte dos consumidores e grupos ativistas a favor da proibição total de qualquer antimicrobiano como melhorador de desempenho na produção de animais destinados à alimentação, torna-se necessária busca por aditivos naturais alternativos que auxiliem, através de mecanismos específicos, a superar desafios sanitários.

Fatores estressantes também influenciam negativamente o sistema imune dos animais de criação e, dessa forma, implicam em aumento da susceptibilidade às doenças, e conseqüentemente quedas no desempenho (Dohms e Metz, 1991). O sistema imune das aves possui um órgão linfoepitelial (*Bursa de Fabricius*), onde ocorrem a diferenciação e maturação dos linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos. Estudos histomorfométricos da *Bursa de Fabricius* em aves submetidas a condições de estresse concluíram que o estresse afeta o desenvolvimento e maturação das bursas com aumento no índice de apoptose dos linfócitos (Guimarães, 2001).

Glutamina e ácido glutâmico (Yoo et al., 1997; Newsholme, 2003a e 2003b; Yi et al., 2005), bem como óleos essenciais e extratos vegetais (Christaki et al., 2004; Jamroz et al., 2005; Awaad et al., 2010; Vasconcelos et al., 2010) são capazes de melhorar a resposta imune e a microbiota intestinal, prevenindo efeitos negativos na estrutura do intestino, melhorar a digestão e absorção dos nutrientes e conseqüentemente, o desempenho dos

animais, o que os tornam aditivos interessantes para criação de frangos de corte alternativos durante períodos de desafio.

Em função do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos aditivos fitogênicos e da glutamina mais ácido glutâmico, associados ou não, sobre a histomorfometria da *Bursa de Fabricius* e intestino delgado, sobre contagem de oocistos e escores de lesão do epitélio intestinal e sobre o *turnover* da mucosa intestinal de frangos de corte experimentalmente infectadas com *Eimeria acervulina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, nas instalações do Laboratório de Nutrição de Aves do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal.

Foram utilizados 450 pintos de corte machos de 1 dia de idade da linhagem Cobb, vacinados no incubatório contra doenças de Marek, Gumboro e Boubá aviária. Em câmara climática, com temperatura e ventilação controladas e mantidas na zona de conforto térmico, as aves foram alojadas em gaiolas metálicas dispostas em fileiras, munidas de comedouros frontais e bebedouros tipo nipple, nas quais foram criadas até 42 dias de idade. O delineamento foi inteiramente casualizado, contendo seis tratamentos com três repetições de 25 aves. Os tratamentos consistiram de dieta controle isenta de ingredientes de origem animal e aditivos antimicrobianos melhoradores de desempenho (DC); DC + Vacina contra coccidiose; DC + antibiótico melhorador de desempenho e anticoccidiano (AMD/AC); DC + glutamina + ácido glutâmico (Gln/Glu); DC + Gln/Glu + aditivos fitogênicos (AFs) e DC + Gln/Glu + AFs. As aves do tratamento Controle + Vacina foram vacinadas individualmente e oralmente, aos três dias de idade, contra coccidiose (Livacox<sup>®</sup>).

O antibiótico utilizado foi o Surmax<sup>®</sup> com inclusão de 100g/ton (Avilamicina:10ppm de inclusão) e o anticoccidiano foi o Monenpac<sup>®</sup> com inclusão de 25g/ton (Monensina: 100ppm de inclusão). Como fonte de glutamina e ácido glutâmico foi utilizado o AminoGut<sup>®</sup> (garantia mínima de 10% de glutamina e 10% de ácido glutâmico) com inclusão de 1,0% nas fases de 1 a 21 dias de idade e 0,5% nas fases de 22 a 42 dias de idade. Os aditivos fitogênicos utilizados foram o Imunostart<sup>®</sup> composto de extrato de

curcuma, extratos de citros e extratos de sementes de uva, com inclusão de 700g/ton de 1 a 10 dias de idade; 500g/ton de 11 a 21 dias de idade e o Enterocox<sup>®</sup> composto de óleo de eucalipto, óleo essencial de Canela-da-China, folhas de Boldo-do-Chile, sementes de Feno-Grego, com inclusão de 300g/ton de 1-10 dias de idade, 1000g/ton de 11 a 35 dias de idade e 500g/ton de 36 a 42 dias de idade.

A inclusão do AminoGut<sup>®</sup> nas rações foi realizada em substituição ao amido de milho por apresentarem valores energéticos semelhantes e a inclusão dos demais aditivos em substituição ao material inerte (caulim) de acordo com as recomendações dos fabricantes.

O período de criação foi dividido em apenas duas fases: inicial (1 a 21 dias de idade) e crescimento (22 a 42 dias de idade) para evitar variação nos sinais isotópicos das dietas, sendo que as dietas de 1 a 7 e de 8 a 21 dias de idade diferem nos níveis de aditivos fitogênicos conforme níveis estabelecidos para cada fase de criação (Tabelas 1). As exigências nutricionais das aves foram estabelecidas para cada fase de criação segundo as tabelas de exigências nutricionais de Rostagno et al. (2005). Água e ração foram fornecidas *ad libitum* e o programa de luz foi constante, com fornecimento de 24 horas de luz durante todo o período de criação.

Os pintos de corte foram obtidos de matrizes que estavam recebendo dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo fotossintético C<sub>4</sub>, (milho). Estes, ao nascerem, possuíam em seus tecidos corporais sinais isotópicos de <sup>13</sup>C semelhantes ao destas dietas ( $\delta^{13}\text{C} = -18,65\%$ ). Após o alojamento, para avaliar o *turnover* na mucosa intestinal através de análise isotópica do tecido, e assim determinar se o uso dos AFs e Gln/Glu influenciou no desenvolvimento da mucosa intestinal, os pintos de um dia de idade receberam dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C<sub>3</sub> (arroz), possuindo sinal isotópico de <sup>13</sup>C diferente das dietas C<sub>4</sub> fornecida às matrizes ( $\delta^{13}\text{C} = \sim -28\%$ ).

Aos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 7; 9; 14; 21 dias de idade foram retiradas aleatoriamente três aves por tratamento, sacrificadas por deslocamento da articulação crânio-cervical, das quais foram colhidas amostras de mucosa do intestino delgado na altura do duodeno (toda alça proximal e distal) por meio de raspagem com lamínula de vidro e

aconditionadas em tubos plásticos de 1 mL, identificadas e imediatamente congeladas a -18°C até a sua preparação para as análises isotópicas.

Aos 16 dias de idade, as aves de todos os tratamentos foram inoculadas oralmente e individualmente com 500.000 oocistos de *Eimeria acervulina*, conforme dose definida por Williams e Losa (2001) para causar moderadas lesões no epitélio intestinal das aves. Como o ciclo desta espécie de *Eimeria* é de 4 a 5 dias provocando as primeiras lesões no epitélio intestinal, a partir dos 21 dias de idade, as aves passaram a receber dietas compostas predominantemente por plantas do ciclo C<sub>4</sub> (milho), possuindo sinal isotópico de <sup>13</sup>C diferentes da dieta na fase inicial ( $\delta^{13}\text{C} \sim -19\%$ ). A mudança na composição da dieta objetiva provocar nova alteração no sinal isotópico do tecido animal para captar a velocidade na taxa de *turnover* da mucosa intestinal após o desafio e, com isso, determinar se o uso dos AFs e Gln/Glu favoreceu a recuperação da mucosa intestinal.

Foram colhidas amostras de mucosa aos 21,5; 22; 22,5; 23; 24; 25; 26; 28; 35; 42 dias de idade procedendo-se do mesmo modo descrito para a fase anterior.

Para realização das análises, as amostras foram descongeladas e pesados 200 µg em cápsulas de estanho e introduzidas no espectrômetro de massa DELTA-S acoplado ao Analisador Elementar da UNESP-Botucatu-Centro de Isótopos Estáveis. As amostras foram queimadas quantitativamente para obtenção de CO<sub>2</sub>.

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

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

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

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono das dietas na mucosa intestinal das aves depois de determinado intervalo de tempo, foi empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 2 (Ducatti et al., 2002), obtida utilizando-se o método de equações exponenciais de primeira ordem do software OriginPro<sup>®</sup> 8 Professional (Microcal Software, 2007):

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

Onde:  $\delta^{13}\text{C}(t)$  = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t). Adimensional;

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

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

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

Onde:  $T$  = meia vida em unidade de tempo (dias);  $\ln$  = logaritmo niperiano;  $k$  = constante do *turnover*, unidade: tempo<sup>-1</sup>, fornecendo uma idéia de “velocidade” no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (Ducatti et al., 2002; Ducatti, 2005).

Para as análises histomorfométricas do intestino delgado, aos 7 e 21 dias de idade, foram colhidos dois segmentos de três centímetros do duodeno, do jejuno e do íleo de duas aves por repetição. Os segmentos foram cortados transversalmente e longitudinalmente, abertos pela sua borda mesentérica, lavados e estendidos pela túnica serosa, os quais foram fixados em solução de formol à 10% por 24 horas e lavados em água corrente por mais 24 horas. Posteriormente, foram desidratados em uma série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast.

Para as análises histomorfométricas da *Bursa de Fabricius*, aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade, as mesmas foram colhidas inteiras e fixadas em solução de formol a 10%. Da mesma maneira que as amostras de intestinos, posteriormente, foram desidratados em série crescente de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em Paraplast.

Com o uso do micrótomo foram obtidos cortes de cinco micrômetros de espessura, os quais foram corados com Hematoxilina e Eosina (Luna, 1968) e com microscópio ótico acoplado a sistema analisador de imagens (Leica LAS Interactive Measurements) e computador, foram medidas a altura das vilosidades e a profundidade das criptas dos segmentos do intestino delgado e a porcentagem do córtex do folículo linfóide bursal. As medidas de altura das vilosidades foram tomadas a partir da região basal do vilo, coincidente com a porção superior das criptas, até ao seu ápice e as criptas foram medidas a partir da sua base até a região de transição cripta:vilosidade. Foram realizadas 20 leituras de altura de vilosidades e profundidade de criptas por segmentos (Loddi, 1998). Os folículos

bursais, nos quais o corte passou pela região central, foram circundados por uma linha obtendo-se a área folicular total. Em seguida, foi feita a delimitação da porção medular do mesmo folículo, passando uma linha sobre a membrana basal que divide a área cortical da medular para calcular a porcentagem de córtex folicular. As leituras foram realizadas em 10 folículos por amostra (Muniz, 2006).

Aos 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28 e 35 dias de idade, ou seja, aos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, e 19 dias após inoculação com a *Eimeria acervulina* foram avaliados os escores de lesão do intestino delgado. Os escores de lesão zero (ausência de lesões), um (pontos ou estrias brancas esparsas até 5 por cm<sup>2</sup> e confinadas ao duodeno), dois (pontos ou estrias brancas mais numerosas que se estendem até o meio do duodeno), três (pontos ou estrias brancas já coalescentes com redução de tamanho se estendendo até o divertículo; parede intestinal engrossada) e quatro (pontos e estrias brancas completamente coalescentes dando a mucosa do intestino uma coloração acinzentada; lesões típicas somente no intestino médio; parede intestinal engrossada) foram atribuídos de acordo com a metodologia de Johnson e Reid (1970).

Aos 4, 5, 6 e 7 dias após a inoculação, foram coletadas amostras de excretas de cada unidade experimental para contagem de oocistos. Essas amostras foram homogeneizadas e pesados dois de cada amostras para diluição em 60 mL de solução saturada de NaCl. Após agitação, a solução foi filtrada e uma alíquota foi introduzida em câmara de MacMaster onde a contagem foi realizada com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 10 X. O resultado da contagem foi expresso em número de oocistos por grama de fezes (Hodgson, 1970).

Os dados foram tabulados e analisados com auxílio do procedimento GLM do software SPSS<sup>®</sup> versão 13.0 (2004) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

### **Histomorfometria da *Bursa de Fabricius***

Os resultados das análises histomorfométricas da *Bursa de Fabricius* estão apresentados na tabela 2. Aos 7 dias de idade, as maiores porcentagens de área cortical do

folículo bursal ( $P < 0,05$ ) foram observadas nas aves do tratamento Gln/Glu, AFs e Gln/Glu+AFs em relação ao controle. Estes dois últimos não diferiram dos tratamentos DC+Vacina e AMD/AC que não diferiram do controle.

Aos 14 dias de idade, as maiores porcentagens de área cortical ( $P < 0,05$ ) foram observadas nas aves dos tratamentos Gln/Glu, AFs e Gln/Glu +AFs em relação ao AMD/AC. Estes dois últimos não diferiram do DC e DC + Vacina que não diferiram do AMD/AC. Aos 21 dias de idade, as maiores porcentagens de área cortical do folículo bursal ( $P < 0,05$ ) foram observadas nas aves do tratamento Gln/Glu, AFs e Gln/Glu + AFs em relação ao DC, DC + Vacina e AMD/AC. As aves do tratamento DC + Vacina apresentaram a menor ( $P < 0,05$ ) porcentagem de área cortical não diferindo apenas do controle. Não houve influência dos tratamentos aos 28 e 35 dias de idade.

#### **Escores de lesão do epitélio intestinal e contagem de oocistos**

Não houve efeito dos tratamentos para escore de lesão (Tabela 3). Com a dosagem utilizada, era esperado observar moderadas lesões no epitélio intestinal.

Houve efeito dos tratamentos ( $P < 0,05$ ) para número de oocistos excretados por grama de fezes aos 4 e 5 dias após inoculação e no período total de coleta (Tabela 4).

Após 4 dias, o menor número de oocistos excretados foi observado no grupo de aves alimentadas com dieta contendo AMD/AC, AFs e Gln/Glu + AFs em relação ao grupo alimentado com DC, DC + Vacina e os alimentados com dieta contendo Gln/Glu, sendo que frangos do grupo recebendo DC + Vacina e Gln/Glu excretaram menor número de oocistos que os do grupo controle. Após 5 dias, o menor valor encontrado foi no tratamento contendo AFs, seguido do tratamento contendo Gln/Glu + AFs. Os maiores valores ocorreram para frangos do grupo controle e os alimentados com dieta suplementada com Gln/Glu em relação aos do grupo tratado com AFs, não diferindo dos alimentados com AMD/AC e DC+Vacina. Para a quantidade total de oocistos excretados no período acumulado de 4 a 7 dias, os menores valores foram observados para os dois tratamentos contendo AFs em relação ao tratamento controle e Gln/Glu, não diferindo dos tratamentos AMD/AC e DC+Vacina.

### **Histomorfometria da mucosa intestinal**

Os resultados das análises histomorfométricas do intestino delgado aos sete dias de idade estão apresentados na Tabela 5. Houve influência dos tratamentos ( $P < 0,05$ ) apenas para altura de vilosidade e profundidade de criptas dos segmentos do duodeno e íleo. A maior altura de vilosidade no duodeno foi observada no tratamento Gln/Glu em relação ao DC, DC + Vacina e AFs, não diferindo dos tratamentos Gln/Glu + AFs e AMD/AC, que não diferiram entre si nem dos demais tratamentos. A maior profundidade de cripta no duodeno foi observada nos tratamentos Gln/Glu e DC + Vacina em relação ao DC, não diferindo dos demais tratamentos, que não diferiram do DC e nem entre si. A maior altura de vilosidade no íleo foi observada no tratamento Gln/Glu em relação ao DC, não diferindo dos demais tratamentos, que também não diferiram entre si e nem do DC. A maior profundidade de cripta do íleo foi observada nos tratamentos Gln/Glu e Gln/Glu + AFs em relação aos demais tratamentos que não diferiram entre si.

Os resultados das análises histomorfométricas do intestino delgado aos 21 dias de idade estão apresentados na Tabela 6. Houve influência dos tratamentos ( $P < 0,05$ ) apenas para altura de vilosidade e profundidade de criptas dos segmentos do duodeno e íleo. Aves do tratamento Gln/Glu e Gln/Glu + AFs apresentaram maior altura de vilosidades do duodeno em relação às aves do tratamento controle, não diferindo dos demais tratamentos que não diferiram entre si. Maior profundidade das criptas do duodeno foi encontrada para o tratamento Gln/Glu em relação ao DC e DC + Vacina, não diferindo de AFs e Gln/Glu + AFs e AMD/AC. Aves do tratamento Gln/Glu, AFs e Gln/Glu + AFs apresentaram maior altura de vilosidades do íleo em relação às aves do tratamento DC e AMD/AC. As aves do tratamento DC + Vacina apresentaram menor altura de vilosidades em relação ao tratamento Gln/Glu + AFs, não diferindo dos demais tratamentos. Maior profundidade das criptas do íleo foi observada para aves do tratamento Gln/Glu + AFs em relação ao controle, DC + Vacina e AMD/AC não diferindo de Gln/Glu e AFs.

### **Turnover da mucosa intestinal**

Os resultados de *turnover* da mucosa intestinal (região do duodeno) dos frangos na fase de 1 a 21 dias de idade e valores de meia vida do carbono (T) encontram-se mostrados nas Figuras 1a e 1b. As análises dos resultados de  $\delta^{13}\text{C}$  da mucosa resultaram nas equações:

$\delta^{13}\text{C} = -27,23\text{‰} + 6,87\text{‰} e^{-0,5623t}$  ( $R^2 = 0,99$ ) com T de 1,23 dias ou 29,52 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -27,23\text{‰} + 7,54\text{‰} e^{-0,5705t}$  ( $R^2 = 0,99$ ) com T de 1,21 dias ou 29,04 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -26,92\text{‰} + 7,48\text{‰} e^{-0,5659t}$  ( $R^2 = 0,93$ ) com T de 1,22 dias ou 29,28 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -27,17\text{‰} + 7,20\text{‰} e^{-0,5773t}$  ( $R^2 = 0,96$ ) com T de 1,20 dias ou 28,80 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -27,19\text{‰} + 7,55\text{‰} e^{-0,5824t}$  ( $R^2 = 0,98$ ) com T de 1,19 dias ou 28,56 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -27,14\text{‰} + 7,38\text{‰} e^{-0,5814t}$  ( $R^2 = 0,96$ ) com T de 1,19 dias ou 28,56 horas  
 para as aves dos tratamentos Controle, Controle + Vacina, AMD/AC, Gln/Glu, AFs, AFs + Gln/Glu, respectivamente.

Os resultados de turnover da mucosa intestinal (região do duodeno) dos frangos na fase de 21 a 42 dias de idade (após desafio com *Eimeria acervulina*) e valores de meia vida do carbono (T) encontram-se nas Figuras 2a e 2b. As análises dos resultados de  $\delta^{13}\text{C}$  da mucosa intestinal das aves resultaram nas equações:

$\delta^{13}\text{C} = -21,47\text{‰} + 6,09\text{‰} e^{-0,8173(t-21)}$  ( $R^2 = 0,96$ ) com T de 0,85 dias ou 20,40 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -21,56\text{‰} + 6,85\text{‰} e^{-0,8292(t-21)}$  ( $R^2 = 0,98$ ) com T de 0,84 dias ou 20,16 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -21,27\text{‰} + 6,32\text{‰} e^{-0,6055(t-21)}$  ( $R^2 = 0,98$ ) com T de 1,14 dias ou 27,36 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -20,57\text{‰} + 6,98\text{‰} e^{-0,9582(t-21)}$  ( $R^2 = 0,98$ ) com T de 0,72 dias ou 17,28 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -21,21\text{‰} + 6,35\text{‰} e^{-0,6002(t-21)}$  ( $R^2 = 0,97$ ) com T de 1,15 dias ou 27,60 horas;  
 $\delta^{13}\text{C} = -20,94\text{‰} + 6,49\text{‰} e^{-0,68,67(t-21)}$  ( $R^2 = 0,99$ ) com T de 1,01 dias ou 24,24 horas  
 para as aves dos tratamentos Controle, Controle + Vacina, AMD/AC, Gln/Glu, AFs, AFs + Gln/Glu, respectivamente.

## DISCUSSÃO

A glutamina é muito utilizada em altas taxas por células isoladas do sistema imune, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos (Newsholme et al., 1985; Newsholme, 2001; Newsholme et al., 2003a e 2003b). Para Newsholme (2001), o fato de o nitrogênio amínico da glutamina ser utilizado para síntese de nucleotídeos, seria um dos fatores que explica a alta necessidade de glutamina em células que se proliferam rapidamente, como as do sistema imune e da mucosa intestinal. Segundo Yaqoob e Calder (1997), proliferação de linfócitos T não ocorre na ausência de glutamina e, com o aumento da concentração de

glutamina, aumenta proliferação de linfócitos, o que os tornam dependentes de glutamina. A diferenciação de linfócitos B e síntese de anticorpos também é dependente de glutamina, segundo Crawford e Cohen (1985).

Neste estudo foi observado o efeito benéfico da Gln/Glu e dos AFs sobre o desenvolvimento da *Bursa de Fabricius*, propiciando maior porcentagem de área cortical aos 7, 14 e 21 dias de idade. Aumento da área cortical também foi observado por Fascina et al. (2011) em frangos suplementados com os mesmos aditivos fitogênicos deste estudo. Como a região cortical é o local onde ocorre a maior parte da diferenciação e maturação de linfócitos B, pode-se presumir que a maior porcentagem de área cortical implica em melhores condições para resposta imune frente à desafios infecciosos.

Entre 5 e 7 dias após inoculação, observaram-se lesões muito severas no intestino (Figura 3) com escores muito altos em todos os tratamentos (Tabela3), indicando que os oocistos inoculados possuíam alta patogenicidade, o que dificultou a observação dos possíveis efeitos dos tratamentos sobre o grau das lesões. Entretanto foi possível verificar que após 5 dias do aparecimento das primeiras lesões, as aves dos tratamentos com Gln/Glu não apresentavam mais lesões indicando rápida recuperação da mucosa intestinal. Esse resultado pode estar associado ao fato da glutamina e ácido glutâmico contribuírem com o fornecimento de energia necessário para células que proliferam rapidamente, como as células do sistema imune e enterócitos, além de serem considerados como precursores para síntese de outros aminoácidos e nucleotídeos importantes na síntese protéica (Newsholme, 2003a e 2003b).

Ao avaliar o número de oocistos excretados pelas aves após a inoculação, observou-se menor número nos tratamentos contendo AFs confirmando os efeitos benéficos dos AFs no controle da coccidiose já relatados por outros pesquisadores (Evans et al., 2001; Giannenas et al., 2003; Christaki et al., 2004; YI et al., 2005; Miguel et al., 2009). A maior excreção de oocistos no tratamento controle e Gln/Glu eram de se esperar já que não há nenhum aditivo com ação anticoccidiana.

Aos sete dias de idade foi possível verificar efeito da glutamina e ácido glutâmico nos segmentos do duodeno e íleo com aumento significativo na altura das vilosidades e profundidade das criptas (Tabela 5), corroborando os resultados de outros autores que

também verificaram efeitos benéficos da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal na primeira semana de vida de aves alimentadas com dieta suplementada com glutamina (Maiorka et al., 2000; Sakamoto et al., 2005; Bartell e Batal, 2007; Murakami et al., 2007). Quanto à maior profundidade de criptas na região do duodeno para o tratamento DC + Vacina nesta fase de criação, isso pode ter ocorrido em função da vacina contra coccidiose (reação vacinal), aumentando a proliferação das células da cripta na tentativa de reparar os possíveis danos causados pela vacina nas vilosidades intestinais.

Aos 21 dias de idade, 5 dias após inoculação com oocistos de *Eimeria acervulina*, o intestino das aves, em todos os tratamentos, já se apresentava lesado como mostra a figura 3 com encurtamento das vilosidades na região do duodeno (Figura 4). Observou-se que as vilosidades intestinais do duodeno das aves, nesta idade, apresentaram altura bem inferior às vilosidades do duodeno das aves aos sete dias de idade, comprovando a destruição causada pelos oocistos. A maior altura de vilosidade e profundidade de criptas do duodeno e do íleo, nesta fase, foi observada nas aves alimentadas com dieta suplementada com Gln/Glu e AFs (Tabela 6). Outros pesquisadores também relataram melhores alturas de vilosidades e menores efeitos deletérios sobre as células da mucosa intestinal de frangos de corte quando alimentados com dieta suplementada com glutamina (Yi et al., 2005; Lopes, 2008), ou aditivos fitogênicos (Miguel et al., 2009), frente ao desafio com coccidiose.

Além de fornecedora de energia e precursora para síntese de outros aminoácidos e nucleotídeos, a glutamina pode induzir mecanismos de transcrição gênica pela ativação da proteína quinase, que é uma enzima que ativa mitogênese na região das criptas do epitélio intestinal, levando ao aumento da proliferação celular, influenciando na manutenção da estrutura da mucosa (Blikslager e Roberts, 1997; Rhoads et al., 1997). Para Wilmore e Shabert (1998) e Souba et al. (1990), a suplementação com glutamina pode ser benéfica para manutenção do metabolismo e apoio terapêutico da mucosa intestinal e sistema imunológico especialmente em condições de doenças ou traumas, quando a barreira da mucosa intestinal pode ficar comprometida.

Os resultados histomorfométricos da mucosa intestinal sugerem o efeito benéfico da glutamina e do ácido glutâmico no desenvolvimento, na manutenção e reparo das injúrias

do epitélio intestinal causados pela coccidiose, bem como dos aditivos fitogênicos no controle da doença.

Ao avaliarmos o *turnover* da mucosa no período de 1 a 21 dias de idade (Figura 2a e b) verificou-se que os valores de meia vida da mucosa intestinal das aves dos tratamentos com Gln/Glu (T = 28,80 horas), AFs (T = 28,56 horas) e Gln/Glu + AFs (T = 28,56 horas), foram menores quando comparados com os do tratamento controle (T = 29,52 horas) e AMD/AC (T = 29,28 horas), indicando que a suplementação com Gln/Glu e AFs propiciou aceleração na velocidade de troca do carbono na mucosa intestinal de frangos de corte na fase inicial de crescimento, representando maior *turnover* deste tecido e, portanto, maior aceleração no crescimento intestinal. Esses resultados evidenciam o efeito trófico destes nutrientes sobre o epitélio intestinal, estimulando o aumento da taxa de proliferação celular.

Muitos agentes tróficos são indutores de mecanismos de transcrição gênica pela ativação de enzimas importantes no processo mitótico na região das críptas, como por exemplo, a ativação da proteína quinase, que é uma enzima que ativa mitogênese e que ocorre quando da presença de Gln (Blikslager e Roberts, 1997). Outros têm ação indireta, ou seja, favorecem os mecanismos de manutenção da integridade epitelial por permitir maior sanidade na mucosa intestinal (Maiorka et al., 2002) e que parece ser o caso dos AFs. A meia vida encontrada para o tratamento Controle + Vacina (T = 29,04 horas), menor que do tratamento controle e AMD/AC, pode ter ocorrido em função da vacina contra coccidiose, aumentando a proliferação celular na tentativa de reparar os possíveis danos nas vilosidades, conseqüentemente, acelerando a troca tecidual.

No período de 21 a 42 dias de idade (Figura 3a e b) verificou-se que os valores de meia vida (T) dos tratamentos Controle (T = 20,40 horas), Controle + Vacina (T = 20,16 horas) e com Gln/Glu (T = 17,28 horas) foram menores quando comparados com os dos demais tratamentos. As aves destes três tratamentos apresentaram pouca mucosa no decorrer da coleta, por volta dos 23 dias de idade, sugerindo que esses grupos tiveram grande parte da mucosa intestinal destruída pelos coccídeos aumentando a proporção de tecido novo recém formado em relação ao pré-existente. Isto já era esperado, uma vez que estes tratamentos não possuem aditivos com função coccidiostática. Dentre esses três grupos, o menor valor de T ocorreu no tratamento com Gln/Glu, indicando maior

velocidade na substituição do carbono da mucosa, representando maior *turnover* deste tecido. Isso deve ter ocorrido devido ao maior aporte energético e de substratos disponíveis para o sistema celular da mucosa (Reeds e Burrin, 2001; Newsholme et al., 2003a e 2003b), uma vez que em momentos de desafio, a síntese endógena de Gln e Glu não é suficiente para atender as necessidades deste tecido (Young e Marchini, 1990).

Os maiores valores de T foram encontrados nos tratamentos com AMD/AC (T = 27,36 horas), AFs (T = 27,60 horas) e com Gln/Glu + AFs (T = 24,24 horas). Esses resultados sugerem que AMD/AC e AFs foram capazes de controlar, em parte, a coccidiose diminuindo a destruição celular, o que implica em menor velocidade de troca deste tecido em relação aos demais tratamentos.

Dentre esses três grupos o menor valor de T foi o encontrado no tratamento com Gln/Glu + AFs, mostrando, mais uma vez, que Gln e Glu influenciam no processo de renovação da mucosa intestinal, acelerando sua regeneração após os danos causados por patógenos.

### CONCLUSÃO

Glutamina mais ácido glutâmico e aditivos fitogênicos oferecem melhorias à estrutura e, conseqüentemente, à função do intestino, bem como melhores condições para resposta imune frente à desafios infecciosos. Aditivos fitogênicos podem ser utilizados no controle da coccidiose em criações de frangos de corte alternativos.

### REFERÊNCIAS

- Awaad, M. H. H., G. A. Abdel-alim, K. Sayed, S. S. Kawkab, A. Ahmed, A. A. Nada, A. S. Z. Metwalli, A. N. Alkhalaf. 2010. Immunostimulant Effects of Essential Oils of Peppermint and Eucalyptus in Chickens. *Pakistan Veterinary Journal*. 30(2):61-66.
- Bartell, S. M., e A. B. Batal. 2007. The Effect of Supplemental Glutamine on Growth Performance, Development of the Gastrointestinal Tract, and Humoral Immune Response of Broilers. *Poult. Sci.*, 86:1940–1947.
- Blikslager, A. T., e C. Roberts. 1997. Mechanisms of intestinal mucosa repair. *J. Am. Vet. Medical Association*. 9:1437-1441.

- Christaki, E., P. Florou-paneri, I. Giannenas, M. Papazahariadou, N. A. Botsoglou, A. B. Spais. 2004. Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Anim. Res.* 53:137–144.
- Crawford, J., e H. J. Cohen. 1985. The essential role of glutamine in lymphocyte differentiation in vitro. *J. Cell. Physiol.* 124:275-282.
- Dohms, J. E., e A. Metz. 1991. Stress: mechanisms of immunosuppression. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 30:89-109.
- Ducatti, C., A. S. Carrijo, A. C. Pezzato, P. F. A. Mancera. 2002. Modelo teórico e experimental da reciclagem do carbono – 13 em tecidos de mamíferos e aves. *Sci. Agric.* 59(1):29-33.
- Ducatti, C. 2005. Isótopos estáveis ambientais. UNESP, Botucatu-SP, Brasil. 203p.
- Evans, J. W., M. S. Plunkett, M. J. Banfield. 2001. Effect of an essential oil blend on coccidiosis in broiler chicks. *Poult. Sci.* 80:258.
- Fascina, V. B., I .M. G. P. Souza, G. V. Polycarpo, F. B. Carvalho, W. T. Silva, J. R. Sartori. 2011. Efeito dos aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos na dieta de frangos de corte sobre a histomorfometria de bursa de fábricius. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola. Santos-SP. Anais... Campinas: FACTA, 01 CD-ROOM.
- Gannes, L. Z., C. M. Rio, P. Koch. 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A(3):725-737.
- Giannenas, I., P. Florou-paneri, M. Papazahariadou, E. Christaki, N. A. Botsogluo, A. B. Spais. 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch. Anim. Nutr.* 57(2):99-106.
- Guimarães, E. B. 2001. Histometria, índice apoptótico da bolsa cloacal e catabolismo de anticorpos em frangos de corte em ambiente de conforto e estresse térmico. Tese (Doutorado em Patologia e Clínica) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 74p.
- Hodgson, J. N. 1970. Coccidiosis: oocyst-counting technique for coccidiostat evaluation. *Exp. Parasitol.* 28:99-102.

- Jamroz, D., A. Wiliczek, T. Wertelecki, J. Orda, J. Skorupinska. 2005. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and domestic grains. *Brit. Poult. Sci.* 46:485–493.
- Johnson, J., e W. M. Reid. 1970. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.* 28:30-36.
- Khan, J., Y. Iiboshi, L. Cui, M. Wasa, K. Sando, Y. Takagi, A. Okada. 1999. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 23:24–31.
- Loddi, M. M. Aspectos produtivos e qualitativos do uso de probiótico para frangos de corte. 1998. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 60p.
- Lopes, K. L. A. M. Suplementação de glutamina em dietas iniciais para frangos de corte. 2008. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 73p.
- Luna, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3 ed. New York: MacGraw-will. 258p.
- Maiorka, A., I. C. Boleli, M. Macari. 2002. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari, M., R. L. Furlan, E. Gonzales, Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. 113-123.
- Maiorka, A., A. V. F. Silva, E. Santin, S. A. Borges, I. C. Boleli, M. Macari. 2000. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 52(5):487-490.
- Microcal Software Origin 6.0 Professional. 1999. Origin Data Analysis and Technical Graphics. Microcal Software Inc., Northampton, MA.
- Miguel, F., C. Francis, R. François. 2009. Effet de l'utilisation de complexes d'extraits vegetaux chez le poulet en croissance, vaccine contre la coccidiose et challenge par une inoculation coccidienne a 14 jours. Huitièmes Journées de la Recherche Avicole. St Malo.

- Muniz, E. C. 2006. Influência da densidade populacional sobre o peso médio, percentual de calo de patas e histomorfometria da bolsa cloacal em aves (*Gallus gallus*). Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Mato Grosso do Sul, 34p.
- Murakami, A. E., Sakamoto, M. I., M. R. M. Natali, L. M. G. Souza, J. R. G. Franco. 2007. Supplementation of Glutamine and Vitamin E on the Morphometry of the Intestinal Mucosa in Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 86:488–495.
- Newsholme, P., J. Procopio, M. M. R. Lima, T. C. Pithon-curi, R. Curi. 2003a. Glutamine and glutamate - their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem. Funct.* 21:1–9.
- Newsholme, P., M. M. R. Lima, J. Procopio, T. C. Pithon-curi, S. Q. Doi, R. B. Bazotte, R. Curi. 2003b. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 36(2):153-163 (Review).
- Newsholme, P. 2001. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, post-injury, surgery or infection? *J. Nutr.* 5:2515S-2522S.
- Newsholme, E. A., B. Crabtree, M. S. Ardawi. 1985. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. *Bioscience Reports.* 5(5):393-400.
- Podolsky, D. K. 1993. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, many questions. *Anim. J. Physiol.* 264:G179-G186.
- Reeds, P. J., e D. G. Burrin. 2001. Glutamine and the bowel. *J. Nutr.* 131:2505S -2508S.
- Rhoads, J. M., R. A. Argenzio, W. Chen, R. A. Rippe, J. K. Westwick, A. D. Cox, H. M. Berschneider, D. A. Brenner. 1997. L-Glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *Am. J. Physiol.* 272:G943–G953.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, e S. L. T. Barreto. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa (MG), Brazil.
- Sakamoto, M. I., A. E. Murakami, R. M. Natali, J. M. Fernandes, L. M. G. Souza. 2005. Influência da glutamina e vitamina E sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. In: Congresso Latino-americano de Nutrição Animal, 2, São Paulo, 2005. Anais... São Paulo: ALANA/CBNA, 1 CD-ROOM.

- Souba, W. W., V. S. Klimberg, D. A. Plumley, R. M. Salloum, T. C. Flynn, K. I. Bland, M. Edward. 1990. The Role of Glutamine in Maintaining a Healthy Gut and Supporting the Metabolic Response to Injury and Infection. *J. Surg. Res.* 48:383-391.
- SPSS 13.0 for Windows. Release 13.0 (1 Sep. 2004). SPSS Inc.
- Vasconcelos, S. P., T. D. M. M. Bona, L. Pickler, R. M. Hayashi, T. B. A. Sousa, E. Santin. 2010. Uso de óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de clostridioses em frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola. Santos-SP. Anais... Campinas: FACTA, 1 CD Rom.
- Warner, N. L., e A. Szenberg. 1964. The immunological function of the bursa of fabricius in the chicken. *Annual Reviews Microbiol.* 18:253-268.
- Williams, P., e R. Losa. 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal.* 17:14-15.
- Wilmore, D. W., e J. K. Shabert. 1998. Role of glutamine in immunologic responses. *Nutr.* 14:618-626.
- Yaqoob, P., e P. C. Calder. 1997. Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes. *Nutr.* 13:646-651.
- Yi, G. F., G. L. Allee, C. D. Knight, J. J. Dibner. 2005. Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poult. Sci.* 84:283-293.
- Yoo, S. S., C. J. Field, M. I. Mcburney. 1997. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentrations and normalizes lymphocyte function in infected early weaned pigs. *J. Nutr.* 127:2253-2259.
- Young, V. R., e J. S. Marchini. 1990. Mechanisms and nutritional significance of metabolic responses to altered intakes of protein and amino acids, with reference to nutritional adaptation in human. *Am. J. Clin. Nutr.* 51(2):270-289.

**Tabela 1. Composição das rações controle de acordo com cada fase de criação.**

<b>Ingredientes</b>	<b>Inicial 1 a 21 dias</b>	<b>Crescimento 22 a 42 dias</b>
Arroz	57,584	-
Milho	-	61,661
Amido	1,000	0,500
Farelo de soja	34,420	30,870
Óleo de soja	2,956	3,197
NaCl	0,500	0,480
Supl. Vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100
Supl. Mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050
Calcário calcítico	0,810	0,830
Fosfato bicálcico	1,900	1,670
DL-metionina	0,155	0,175
L-lisina	0,190	0,230
L-treonina	0,100	0,060
Cloreto de colina <sup>3</sup>	0,060	0,050
Caulim <sup>4</sup>	0,175	0,125
<b>Valores calculados</b>		
EM (kcal/kg)	3000,01	3100,00
PB (%)	20,79	19,41
Cálcio (%)	0,89	0,83
Fósforo disp. (%)	0,44	0,41
Metionina (%)	0,49	0,48
Met + Cys (%)	0,81	0,79
Lisina (%)	1,26	1,18
Treonina (%)	0,86	0,81
Potássio (%)	0,74	0,74
Sódio (%)	0,22	0,21
Cloro (%)	0,34	0,33
Ác. linoléico (%)	2,03	3,06
<b>Valores analisados</b>		
Valor isotópico <sup>5</sup> em $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	~ -28	~ -19

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração): vit. A, 11.000 UI; vit. D<sub>3</sub>, 2.000 UI; vit. E, 16 mg; vit. K<sub>3</sub>, 1,5 mg; B<sub>1</sub>, 1,2 mg; vit. B<sub>2</sub>, 4,5 mg; vit. B<sub>6</sub>, 2 mg; vit. B<sub>12</sub>, 16 µg; niacina, 35 mg; ac. fólico, 0,4 mg; ác. pantotênico, 10 mg; biotina, 60 µg; selênio, 250 µg. (fases pré-inicial, inicial e crescimento); vit. A, 5.500 UI; vit. D<sub>3</sub>, 1.000 UI; vit. E, 8 mg; vit. K<sub>3</sub>, 0,75 mg; B<sub>1</sub>, 0,6 mg; vit. B<sub>2</sub>, 2,25 mg; vit. B<sub>6</sub>, 1 mg; vit. B<sub>12</sub>, 8 µg; niacina, 17,5 mg; ac. fólico, 0,2 mg; ác. pantotênico, 5 mg; biotina, 30 µg; selênio, 125 µg. (fase final). <sup>2</sup> Suplemento mineral MCassab Tecnologia Animal (por kg de ração); iodo, 1000 µg; ferro, 30 mg; cobre, 9 mg; manganês, 60 mg; zinco, 60 mg. <sup>3</sup> Cloreto de colina (70). <sup>4</sup> Veículo em substituição aos aditivos. <sup>5</sup> Valor isotópico expressos em  $\delta^{13}\text{C}$  relativos ao padrão *PeeDee Belemnite* (PDB).

**Tabela 2. Porcentagem da região cortical da Bursa de fabricius de frangos de corte segundo os tratamentos aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade.**

Dias de idade	Tratamentos						CV (%)	P
	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina <sup>2</sup>	AMD/AC <sup>3</sup>	Gln/Glu <sup>4</sup>	AFs <sup>5</sup>	Gln/Glu +AFs		
	Porcentagem cortical (%)							
7 dias	36,66c	40,17bc	41,40bc	47,80a	44,13ab	45,39ab	5,24	0,001
14 dias	42,75bc	42,96bc	40,37c	47,25a	45,04ab	46,41ab	3,44	0,001
21 dias	47,01bc	43,87c	48,24b	53,22a	52,71a	52,90a	3,11	0,000
28 dias	48,74	49,33	51,04	51,96	50,60	50,63	7,43	0,889
35 dias	50,37	51,44	49,30	51,63	50,37	51,46	6,87	0,958

<sup>1</sup>Dieta controle isenta de aditivos (DC); <sup>2</sup>DC mais vacina contra coccidiose no 3º dia de idade; <sup>3</sup>Dieta com adição de antibiótico (Surmax®) e anticoccidiano (Monempac®); <sup>4</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico; <sup>5</sup>DC mais aditivos fitogênicos. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

**Tabela 3. Escores de lesão no intestino dos frangos, segundo os tratamentos, aos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 e 19 dias após inoculação com *E. acervulina* (21, 22, 23, 24, 25, 26, 28 e 35 dias de idade).**

Tratamentos	5d (21)	6d (22)	7d (23)	8d (24)	9d (25)	10d (26)	12d (28)	19d(35)
DC <sup>1</sup>	4,00	3,67	3,67	3,67	1,33	0,33	0,33	0,00
DC+Vacina <sup>2</sup>	3,67	3,00	2,67	1,67	0,33	0,33	0,00	0,00
AMD/AC <sup>3</sup>	3,33	3,33	2,33	2,33	0,33	0,33	0,33	0,00
Gln/Glu <sup>4</sup>	4,00	4,00	3,67	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00
AFs <sup>5</sup>	3,67	3,33	3,67	2,00	0,67	0,33	0,33	0,00
Gln/Glu+AFs	3,67	3,00	3,00	2,00	0,33	0,00	0,00	0,00
CV (%)	4,00	3,67	3,67	3,67	1,33	0,33	0,33	0,00
P	0,538	0,758	0,214	0,058	0,353	0,948	0,909	1,000

<sup>1</sup>Dieta controle isenta de aditivos (DC); <sup>2</sup>DC mais vacina contra coccidiose no 3º dia de idade; <sup>3</sup>Dieta com adição de antibiótico (Surmax®) e anticoccidiano (Monempac®); <sup>4</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico; <sup>5</sup>DC mais aditivos fitogênicos.

**Tabela 4. Número de oocistos de *Eimeria acervulina* por grama de fezes, segundo os tratamentos, aos 4, 5, 6 e 7 dias após inoculação nas aves.**

	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina <sup>2</sup>	AMD/AC <sup>3</sup>	Gln/Glu <sup>4</sup>	AFs <sup>5</sup>	Gln/Glu +AFs	CV (%)	P
	<u>Oocistos por grama de fezes (x1000)</u>							
4 dias	667c	297b	263a	541bc	204a	253a	26,27	0,001
5 dias	2.167c	1.883bc	1.867bc	2.038c	1.027a	1.173ab	16,23	0,003
6 dias	91	76	47	68	80	90	26,80	0,154
7 dias	19	10	9	14	19	9	32,55	0,054
Soma	2.944b	2.266ab	2.186ab	2.661b	1.330a	1.525a	16,88	0,002

<sup>1</sup>Dieta controle isenta de aditivos (DC); <sup>2</sup>DC mais vacina contra coccidiose no 3º dia de idade; <sup>3</sup>Dieta com adição de antibiótico (Surmax®) e anticoccidiano (Monempac®); <sup>4</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico; <sup>5</sup>DC mais aditivos fitogênicos. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

**Tabela 5. Valores médios de altura de vilos (AV) e profundidade de criptas (PC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte, segundo os tratamentos, aos sete dias de idade.**

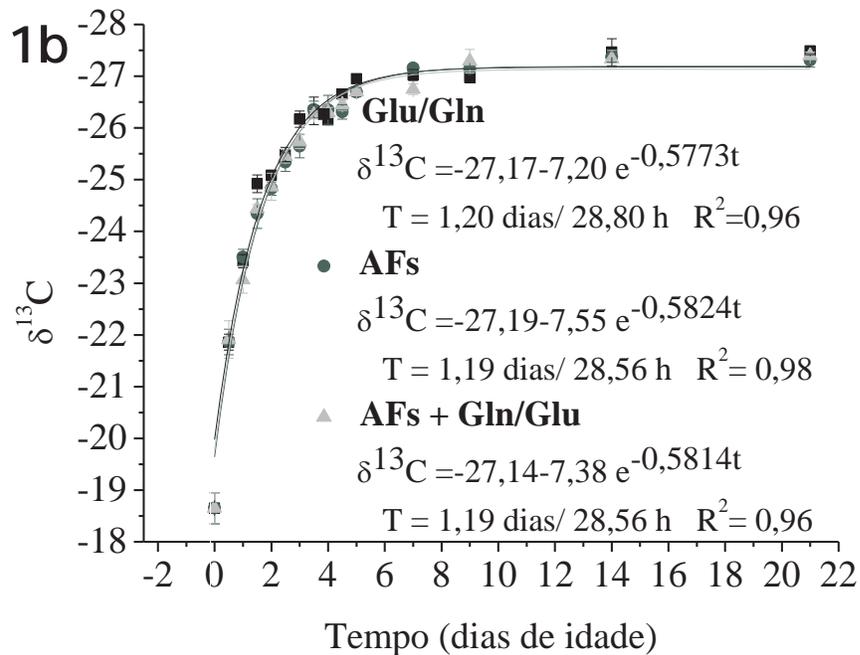
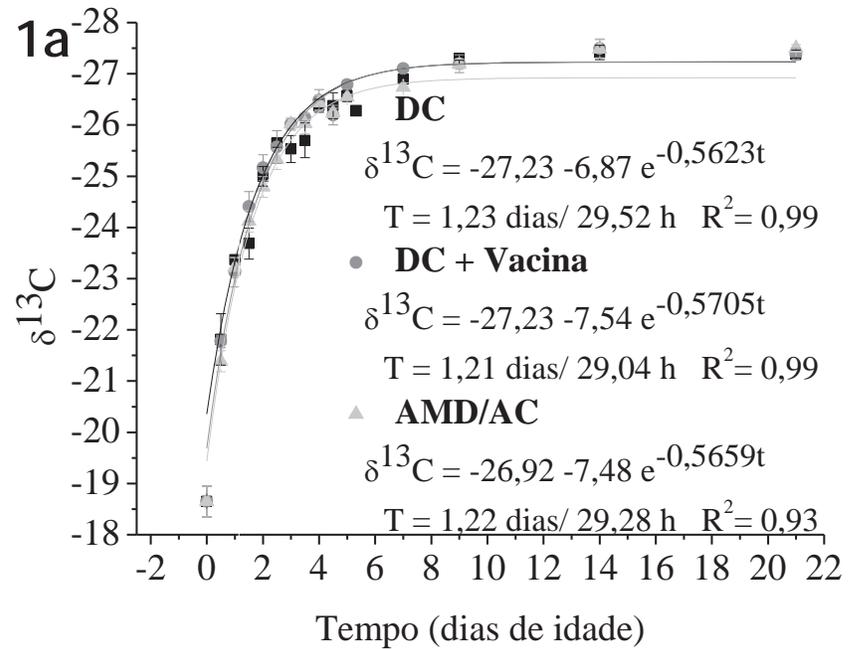
Variáveis	Tratamentos						CV (%)	P
	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina <sup>2</sup>	AMD/AC <sup>3</sup>	Gln/Glu <sup>4</sup>	AFs <sup>5</sup>	Gln/Glu+ AFs		
<b>Duodeno</b>								
AV (µm)	738,79 <b>b</b>	763,30 <b>b</b>	829,54 <b>ab</b>	974,64 <b>a</b>	788,60 <b>b</b>	803,48 <b>ab</b>	7,95	0,008
PC (µm)	108,84 <b>b</b>	127,98 <b>a</b>	116,86 <b>ab</b>	125,53 <b>a</b>	115,91 <b>ab</b>	124,47 <b>ab</b>	5,05	0,021
<b>Jejuno</b>								
AV (µm)	469,50	447,03	485,19	486,77	498,73	475,74	12,14	0,875
PC (µm)	110,56	91,50	92,60	110,30	105,85	112,02	17,13	0,719
<b>Íleo</b>								
AV (µm)	300,22 <b>b</b>	324,28 <b>ab</b>	316,55 <b>ab</b>	423,27 <b>a</b>	332,20 <b>ab</b>	397,75 <b>ab</b>	12,57	0,044
PC (µm)	73,51 <b>b</b>	74,28 <b>b</b>	70,09 <b>b</b>	115,99 <b>a</b>	73,53 <b>b</b>	106,66 <b>a</b>	13,04	0,003

<sup>1</sup>Dieta controle isenta de aditivos (DC); <sup>2</sup>DC mais vacina contra coccidiose no 3º dia de idade; <sup>3</sup>Dieta com adição de antibiótico (Surmax®) e anticoccidiano (Monempac®); <sup>4</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico; <sup>5</sup>DC mais aditivos fitogênicos. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

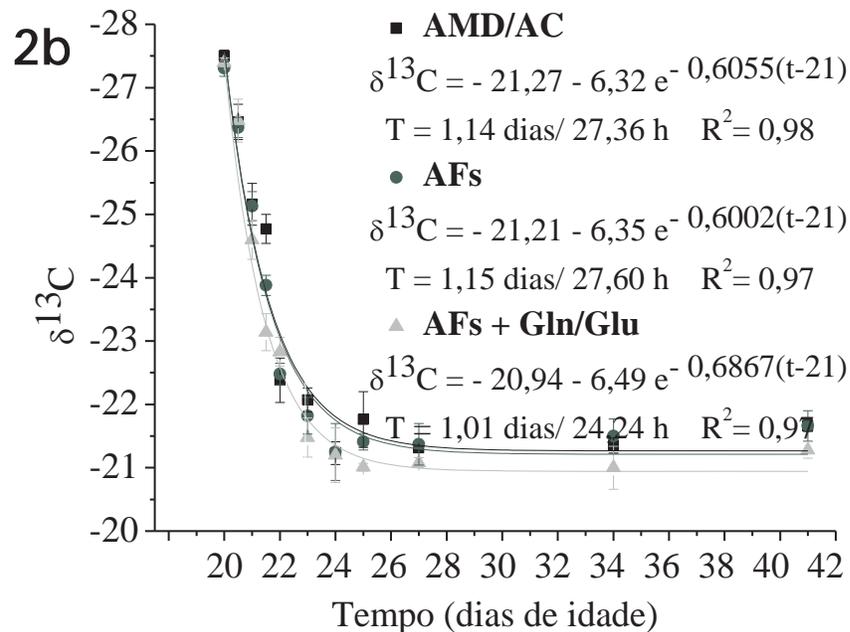
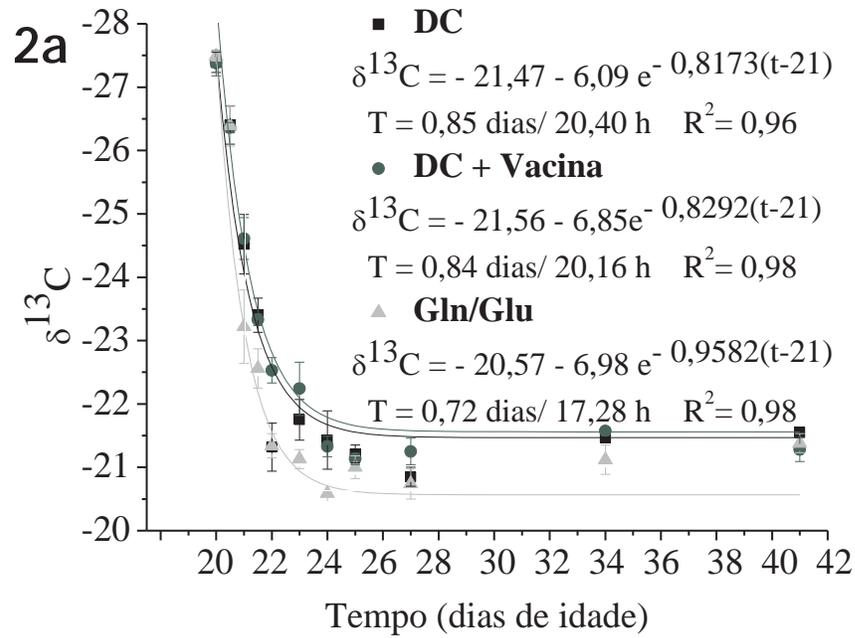
**Tabela 6. Valores médios de altura de vilos (AV) e profundidade de criptas (PC) do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte, segundo os tratamentos, 5 dias após inoculação das aves com oocistos de *Eimeria acervulina* (21 dias de idade).**

Variáveis	Tratamentos						CV (%)	P
	DC <sup>1</sup>	DC+ Vacina <sup>2</sup>	AMD/AC <sup>3</sup>	Gln/Glu <sup>4</sup>	AFs <sup>5</sup>	Gln/Glu +AFs		
<b>Duodeno</b>								
AV (µm)	404,45 <b>b</b>	454,02 <b>ab</b>	471,39 <b>ab</b>	614,55 <b>a</b>	462,81 <b>ab</b>	578,65 <b>a</b>	13,00	0,018
PC (µm)	388,92 <b>b</b>	365,69 <b>b</b>	416,86 <b>ab</b>	517,66 <b>a</b>	428,80 <b>ab</b>	475,79 <b>ab</b>	10,57	0,015
<b>Jejuno</b>								
AV (µm)	673,22	658,35	661,14	760,28	770,06	772,04	12,39	0,653
PC (µm)	152,43	167,13	172,00	174,37	172,85	190,21	18,78	0,707
<b>Íleo</b>								
AV (µm)	482,24 <b>c</b>	506,36 <b>bc</b>	449,84 <b>c</b>	593,71 <b>ab</b>	584,85 <b>ab</b>	599,63 <b>a</b>	6,19	0,001
PC (µm)	116,21 <b>b</b>	113,95 <b>b</b>	110,45 <b>b</b>	150,72 <b>ab</b>	118,40 <b>ab</b>	161,31 <b>a</b>	13,04	0,027

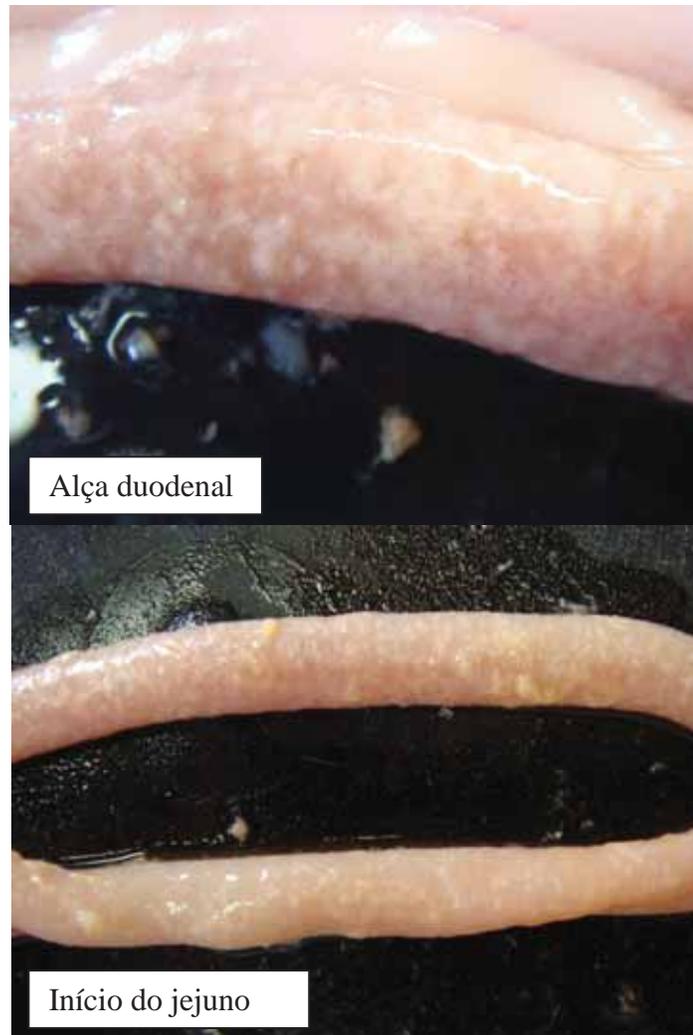
<sup>1</sup>Dieta controle isenta de aditivos (DC); <sup>2</sup>DC mais vacina contra coccidiose no 3º dia de idade; <sup>3</sup>Dieta com adição de antibiótico (Surmax®) e anticoccidiano (Monempac®); <sup>4</sup>DC mais glutamina e ácido glutâmico; <sup>5</sup>DC mais aditivos fitogênicos. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).



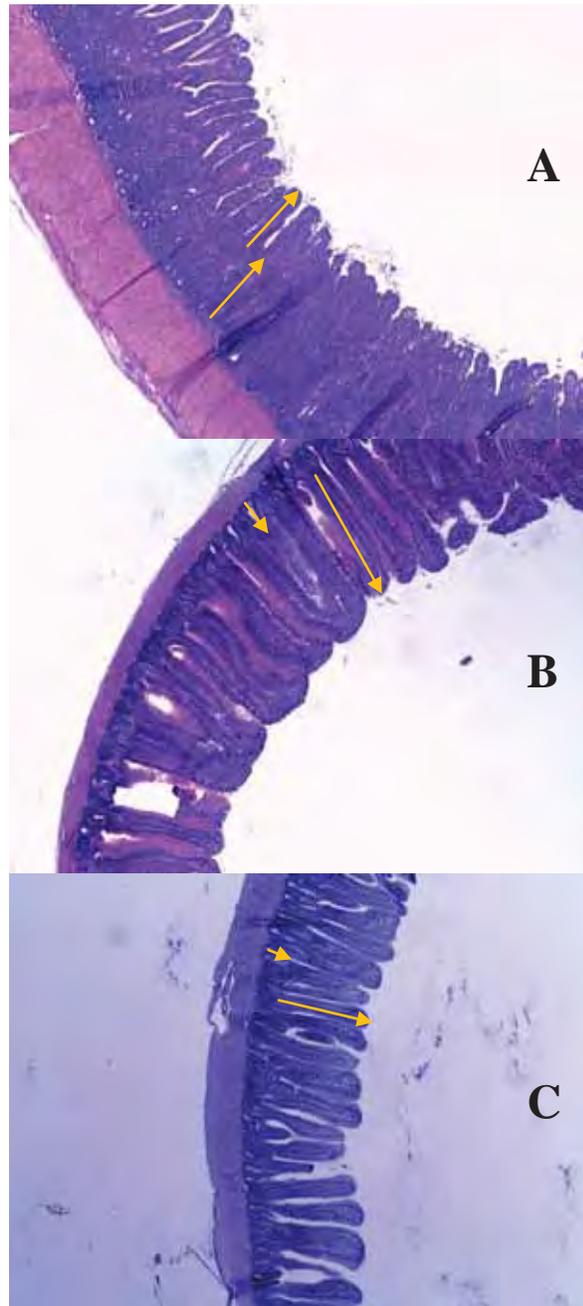
**Figuras 1 (a e b).** Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do  $^{13}\text{C}$  (média  $\pm$  desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de 1 a 21 dias de idade e valores de meia vida (T), em dias ou horas e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).



**Figura 2 (a e b).** Modelo exponencial do *turnover* dos isótopos estáveis do  $^{13}\text{C}$  (média  $\pm$  desvio padrão) da mucosa intestinal de frangos de corte de 21 a 42 dias de idade e valores de meia vida (T), em dias ou horas e coeficientes de determinação ( $R^2$ ).



**Figura 3.** Lesões na superfície interna do intestino das aves causadas pela *E. acervulina*.



**Figura 4.** Cortes histológicos da região do duodeno (A), jejuno (B) e íleo (C) com aumento de 10x. Encurtamento das vilosidades e aumento da profundidade de criptas do duodeno aos 21 dias de idade.

## **CAPÍTULO 5**

### **IMPLICAÇÕES**

## IMPLICAÇÕES

Com a crescente restrição ao uso de antibióticos e quimioterápicos como melhorador de desempenho na dietas dos animais, torna-se importante estudos de aditivos naturais alternativos, uma vez que aves criadas sem a utilização destes ficam mais susceptíveis à infecção por patógenos que poderão lesar o epitélio intestinal das aves dificultando a absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, promovendo queda no desempenho.

No capítulo 2 deste estudo, não observamos efeito de nenhum dos aditivos utilizados sobre o desempenho das aves, o que pode estar associado ao um possível baixo desafio, associado à ingredientes de boa digestibilidade utilizados na confecção das dietas. No entanto, foi possível observar melhor rendimento de carcaça e peito em aves alimentadas com dieta suplementada com glutamina mais ácido glutâmico, reforçando evidências da ação estimulatória da síntese protéica no músculo pela glutamina. No capítulo 3, observamos melhores resultados de desempenho para as aves dos tratamentos contendo aditivos fitogênicos e antibióticos melhoradores de desempenho, quando desafiadas com *Eimeria acervulina*. Glutamina mais ácido glutâmico, nos níveis utilizados, não melhoraram o desempenho das aves. O grau de infecção das aves em todos os tratamentos pode não ter sido o mesmo, já que os oocistos foram adicionados na ração e, sabendo que o consumo varia entre as aves em determinado intervalo de tempo, algumas aves podem ter se infectado mais que outras e até mesmo não ter se infectado, prejudicando a avaliação dos aditivos. No capítulo 4, observamos redução na contagem de oocistos com adição de aditivos fitogênicos na dieta das aves comprovando seu efeito coccidiostático. Já glutamina mais ácido glutâmico contribuíram para melhor desenvolvimento e mais rápida recuperação da mucosa intestinal lesada. Tanto aditivos fitogênicos, como glutamina mais ácido glutâmico contribuíram para o melhor desenvolvimento da *Bursa de Fabricius*, implicando em melhores condições para resposta imune frente à desafios infecciosos.

Os resultados apresentados neste estudo mostram que aditivos fitogênicos melhoram o desempenho das aves, podendo ser utilizados em substituição aos antibióticos e anticoccidianos. Glutamina mais ácido glutâmico, apesar de apresentarem efeito positivo sobre a mucosa intestinal e sistema imune no experimento referente ao capítulo 4, nas

condições dos outros dois experimento, não melhoraram o desempenho, podendo estar associado ao baixo nível de inclusão na dieta, já que, recentemente, outros pesquisadores observaram efeito benéfico da mesma mistura de glutamina mais ácido glutâmico sobre o desempenho de frangos de corte em níveis mais elevados de suplementação.

Sugere-se outras pesquisas sobre a influência da glutamina mais ácido glutâmico, em outros níveis de inclusão, bem como dos aditivos fitogênicos, sobre o desempenho das aves, funcionamento do sistema imune, resistência à instalação de patógenos e taxas de sobrevivência de frangos de corte desafiados com outros microorganismos patogênicos e outras espécies de eimerias além da *E. acervulina*.