

ANA LÚCIA SICCHIROLI PASCHOAL CARDOSO

**Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados  
e associados, sobre o desempenho e a resposta  
imunológica humoral em frangos de corte**

Pirassununga

2004

**ANA LÚCIA SICCHIROLI PASCHOAL CARDOSO**

**Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Área de concentração:**

Nutrição Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga

2004

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1414  
FMVZ

Cardoso, Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal

Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte / Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal Cardoso. – São Paulo : A. L. S. P. Cardoso, 2004.

88 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2004.

Programa de Pós-graduação: Nutrição Animal.  
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Vitamina E. 2. Zinco. 3. Formação de anticorpos. 4. Frangos de corte. 5. Frangos de corte (rendimento). I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

*PARECER*

Interessado: Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal Cardoso

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal.

A Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, após analisar o projeto sob o número 500/2004, intitulado: "Influência de níveis de vitamina "E" e "Zinco", isolados e associados sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte", no qual foram utilizados 1440 frangos de corte, sob responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de bioética, adotados por esta Comissão.

São Paulo, 20 de julho de 2004

  
Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera

Presidente da Comissão de Bioética

FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: CARDOSO, Ana Lúcia Sicchiroli Paschoal

Título: Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu esposo e companheiro, Paulo, por compartilhar os momentos de dificuldades e realizações, e reconhecer que o ser humano só evolui com o saber.

Aos meus filhos, Osvaldo e João Vítor, para que valorizem os ensinamentos e visualizem que o conhecimento é a principal herança deixada entre as gerações.

Aos meus pais pelo incentivo, amor e dedicação,  
ofereço.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, da FMVZ/USP, pela confiança, incentivo, amizade e convívio que tivemos ao longo desta jornada, tornando possível o desenvolvimento deste trabalho.

À amiga Eliana N. Castiglioni Tessari, pela colaboração no desenvolvimento do experimento, e pela grande e inestimável amizade.

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, da FZEA/USP, pela análise estatística dos dados coletados no experimento.

À todos os professores e funcionários do departamento de Nutrição e Produção Animal.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro para a realização desta pesquisa.

À Idexx Laboratories, pela doação dos *Kits* de ELISA.

Aos funcionários do aviário experimental, fábrica de rações e abatedouro, pela colaboração no andamento do experimento.

Aos colegas Jair Furini e Sílvia C. Pratta Pulici, pelo auxílio nas colheitas de sangue das aves.

Ao colega e pós-graduando Alexandre Sechinato, pela colaboração no desenvolvimento do experimento.

Aos funcionários do Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Instituto Biológico, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.



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

(Chico Xavier)

## RESUMO

CARDOSO, A. L. S. P. **Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte.** [Influence of zinc levels and vitamin E, isolated and associated, on the performance and the humoral immune response in broilers]. 2004. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

O objetivo deste experimento foi verificar a influência de diferentes níveis de inclusão nas rações de frangos de corte de vitamina E (Vit E) (0, 12 e 120mg/kg) e do zinco (Zn) (0, 40 e 400mg/kg), isolados e associados, sobre resposta imunológica humoral das aves e sua influência sobre o desempenho e rendimento de carcaça. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial  $3 \times 3$ , com 9 tratamentos e 4 repetições. Para tanto, utilizaram-se 1440 pintos de um dia de idade, metade de cada sexo, distribuídos em 36 parcelas experimentais com 40 aves cada. Os frangos foram criados de 1 a 42 dias de idade, vacinados contra a doença de Newcastle, cepa LaSota, no 14º dia de vida e foram abatidos aos 43 dias de idade. A resposta imunológica humoral dos frangos foi avaliada mediante os testes ELISA e HI no período pré-vacinal aos 14 dias de idade, e pós-vacinal aos 28, 35 e 41 dias de idade das aves. Os dados de desempenho e rendimento de carcaça foram submetidos à análise de variância realizada pelo PROC GLM do SAS. Os dados referentes à resposta imunológica humoral foram analisados através do PROC MIXED do SAS. O aumento da suplementação de zinco na dieta dos frangos de corte resultou em melhoria significativa ( $p < 0,05$ ) no ganho de peso diário das aves no período total de criação, e no ganho médio de peso vivo dos frangos nas fases inicial e de crescimento e no período total de criação. O consumo de ração pelos frangos foi influenciado pelos níveis de Zn utilizados em todas as fases e no período total de criação dos frangos, observando-se uma diminuição da ingestão alimentar nos frangos que receberam 400mg/kg de Zn, exceto na fase final de

criação. Os tratamentos utilizados não influenciaram a conversão alimentar, a mortalidade e os parâmetros do rendimento de carcaça. A interação entre os maiores níveis do Zn e da Vit E na ração proporcionou os maiores títulos de anticorpos mediante o uso do teste ELISA, referentes aos 14º, 28º, 35º e 41º dias de idade dos frangos. O aumento dos níveis do Zn e da Vit E isolados na ração promoveu maiores títulos de anticorpos hemaglutinantes, através do teste HI, referentes ao 14º, 28º e 35º dias de idade dos frangos. No 41º dia de idade das aves, a interação entre os maiores níveis de Zn e Vit E, proporcionou os maiores títulos de anticorpos.

Palavras-chave: Vitamina E. Zinco. Formação de anticorpos. Frangos de corte. Frangos de corte (rendimento).

## ABSTRACT

CARDOSO, A. L. S. P. **Influence of zinc levels and vitamin E, isolated and associated, on the performance and the humoral immune response in broilers.** [Influência de níveis de zinco e vitamina E, isolados e associados, sobre o desempenho e a resposta imunológica humoral em frangos de corte]. 2004. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.

The objective of this experiment was to verify the influence of different inclusion levels in the rations of broilers of vitamin E (Vit E) (0, 12 and 120mg/kg) and of the zinc (Zn) (0, 40 and 400mg/kg), isolated and associated, on humoral immune response of the birds and her influence on the performance and carcass yield. The used experimental design was it of blocks at random in factorial outline 3 x 3, with 9 treatments and 4 repetitions. For so much, it was used 1440 chicks of a day of age, half of each sex, distributed in 36 experimental portions with 40 birds each. The chickens were created from 1 to 42 days of age, vaccinated against the disease of Newcastle, stump LaSota, in the 14th day of life and they were slaughtered to the 43 days of age. The humoral immune response of the chickens was evaluated by the tests ELISA and HI in the period pre vaccinal to the 14 days of age, and post vaccinal to the 28, 35 and 41 days of age of the birds. The performance data and carcass yield were submitted to the variance analysis accomplished by PROC GLM of the SAS. The referring data to the humoral immune response were analyzed through PROC MIXED of the SAS. The increase of the supplementation of zinc in the diet of the broilers resulted in significant improvement ( $p < 0,05$ ) in the earnings of daily weight of the birds in the total period of creation, and in the medium earnings of alive weight of the chickens in the phases initial and of growth and in the total period of creation. The ration consumption for the chickens was influenced by the levels of zinc used in all of the phases and in the total period of creation of the chickens, being observed a decrease of the alimentary ingestion in the chickens that received 400mg/kg of Zn,

except in the final phase of creation. The used treatments didn't influence the alimentary conversion, the mortality and the parameters of the carcass yield. The interaction among the largest levels among the Zn and of the Vit E in the ration provided the largest titles of antibodies by the use of the test ELISA, regarding the 14th, 28th, 35th and 41st days of age of the chickens. The increase of the levels of the Zn and of the Vit E isolated in the ration promoted larger titles of antibodies hemagglutinants, through the HI test, regarding the 14th, 28th and 35th days of age of the chickens. In the 41st day of age of the birds, the interaction among the largest Zn levels and of Vit E, it provided the largest titles of antibodies.

Key words: Vitamin E. Zinc. Formation of antibodies. Broilers. Broilers (yield).

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 14 dias de idade das aves.....	55
Figura 2 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 14 dias de idade das aves.....	55
Figura 3 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 28 dias de idade das aves.....	56
Figura 4 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 28 dias de idade das aves.....	56
Figura 5 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 35 dias de idade das aves.....	57
Figura 6 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 35 dias de idade das aves.....	58
Figura 7 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 41 dias de idade das aves.....	59
Figura 8 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 41 dias de idade das aves.....	59
Figura 9 -	Valores das médias das GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidos através de análise de regressão dos níveis isolados de Vit E referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos.....	62
Figura 10 -	Valores das GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidos através de análise de regressão dos níveis isolados do Zn referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos.....	62
Figura 11 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste HI, referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 41 dias de idade das aves.....	63
Figura 12 -	Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste HI, referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 41 dias de idade das aves.....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Níveis de Vit E (mg/kg) e de Zn (mg/kg) utilizados nas dietas das aves por tratamento, nas três fases de criação.....	44
Tabela 2 -	Composição porcentual e análise calculada das rações nas diferentes fases de criação.....	44
Tabela 3 -	Composição dos suplementos vitamínico-minerais (Vit-min) utilizados.....	45
Tabela 4 -	GMT de anticorpos contra o vírus da DNC, obtidas no teste ELISA, aos 14, 28, 35 e 41 dias de idade das aves em todos tratamentos utilizados.....	54
Tabela 5 -	GMT de anticorpos contra o vírus da DNC, obtidas no teste HI, aos 14, 28, 35 e 41 dias de idade das aves em todos tratamentos utilizados.....	61
Tabela 6 -	GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidas através de análise de regressão dos níveis isolados do Zn e da Vit E referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos.....	61
Tabela 7 -	GMD (g/ave) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas.....	65
Tabela 8 -	Valores das médias dos níveis de Zn utilizados, obtidos através dos contrastes para o GMD (g/ave) e o GMPV (g/ave) dos frangos.....	65
Tabela 9 -	GMPV (g/ave) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas.....	66
Tabela 10 -	CMR (g) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas.....	68
Tabela 11 -	Valores das médias dos níveis de Zn utilizados, obtidos através dos contrastes para o CMR (g) dos frangos.....	68
Tabela 12 -	CA dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas.....	69
Tabela 13 -	Porcentagens de mortalidade dos frangos nos tratamentos testados nas fases inicial (1 a 21 dias de idade), de crescimento (22 a 35 dias de idade),	

	final (36 a 42 dias de idade) e no período total de criação (1 a 42 dias de idade).....	70
Tabela 14 -	Carcaça eviscerada (%), pena (%), sangue (%), gordura abdominal (%) e vísceras comestíveis (%) aos 42 dias de idade dos frangos submetidos a diferentes tratamentos.....	71
Tabela 15 -	Rendimento de coxa e sobrecoxa (%), asa (%), peito (%), pescoço (%), pé (%) e dorso (%) aos 42 dias de idade dos frangos submetidos a diferentes tratamentos.....	72



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu$ l	Microlitro
APC	Células apresentadoras de antígenos
BHT	2,6-di-terc-butil-p-hidroxitolueno
CD4	<i>Cluster</i> de diferenciação 4
CD8	<i>Cluster</i> de diferenciação 8
CMR	Consumo médio de ração
CV	Coefficiente de variação
DNC	Doença de Newcastle
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPM	Erro padrão da média
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FZEA	Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
g	Grama
GMD	Ganho médio diário
GMPV	Ganho médio de peso vivo
GMT	Média geométrica dos títulos
HI	Inibição da hemaglutinação
Ig	Imunoglobulina
kcal	Kilocaloria
kg	Kilograma
L	Linear
mcg	Micrograma
mg	Miligrama
ml	Mililitro
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
nm	Nanômetro
NRC	National research council
NS	Não significativo
PGE	Prostaglandinas
PHA-P	Fito-hemoaglutinina-P
ppm	Partes por milhão

PS	Porcentagem de sangue
Q	Quadrático
qsp	Quantidade suficiente para
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
SAS	Statistical analysis system
TH1	Helper T 1
TH2	Helper T 2
TMB	Tetrametilbenzidina
UHA	Unidades hemaglutinantes
UI	Unidades internacionais
Vit E	Vitamina E
Zn	Zinco

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
$\delta$	Delta
°	Graus
“	Segundos
’	Minutos
°C	Graus Celsius
-	Menos
<	Menor
=	Igual
+	Mais
>	Maior

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	21
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	23
2.1	VITAMINAS.....	23
<b>2.1.1</b>	<b>Vitamina E</b> .....	24
2.2	MINERAIS.....	30
<b>2.2.1</b>	<b>Zinco</b> .....	31
2.3	SISTEMA IMUNOLÓGICO DAS AVES.....	34
2.4	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).....	38
2.5	INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO (HI).....	39
2.6	VACINAÇÃO CONTRA A DOENÇA DE NEWCASTLE.....	40
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	41
3.1	LOCAL E PERÍODO.....	41
3.2	ANIMAIS EXPERIMENTAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	42
3.3	MANEJO E EQUIPAMENTOS.....	42
3.4	RAÇÕES EXPERIMENTAIS.....	43
3.5	VACINA E VACINAÇÃO.....	45
3.6	CARACTERÍSTICAS AVALIADAS.....	46
<b>3.6.1</b>	<b>Imunidade</b> .....	46
3.6.1.1	Colheita de sangue.....	46
3.6.1.2	Teste ELISA.....	47
3.6.1.3	Teste HI.....	48
<b>3.6.2</b>	<b>Avaliação do desempenho</b> .....	49
<b>3.6.3</b>	<b>Rendimento de carcaça e suas partes</b> .....	50
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	53
4.1	IMUNIDADE.....	53
<b>4.1.1</b>	<b>Teste ELISA</b> .....	53
<b>4.1.2</b>	<b>Teste HI</b> .....	59
4.2	DESEMPENHO ANIMAL.....	64
<b>4.2.1</b>	<b>Ganho médio diário</b> .....	64
<b>4.2.2</b>	<b>Ganho médio de peso vivo</b> .....	66

4.2.3	<b>Consumo médio de ração.....</b>	67
4.2.4	<b>Conversão alimentar.....</b>	69
4.2.5	<b>Mortalidade.....</b>	70
4.3	RENDIMENTO DE CARÇAÇA E SUAS PARTES.....	71
5	<b>DISCUSSÃO.....</b>	73
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	79
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	80

## 1 INTRODUÇÃO

A saúde é um fator com profundas implicações para a indústria avícola, devido aos desafios associados com as práticas de produção intensiva, envolvendo as variáveis de manejo, genética e nutrição. Desta maneira, as aves precisam de mecanismos de defesa contra a invasão por agentes infecciosos, e resistir à sua proliferação, o que pode resultar em doença, sendo o sistema imunológico das aves, o responsável pela defesa das mesmas.

Como os problemas sanitários podem afetar a mortalidade e o desempenho econômico em lotes de frangos de corte, normalmente, os mesmos recebem uma ração melhorada, com alguns nutrientes sendo usados em níveis acima das necessidades para um ótimo crescimento, e diversos nutrientes apresentam ação imunoreguladora. Neste sentido, torna-se importante o emprego de nutrientes como o zinco (Zn) e a vitamina E (Vit E), que apresentam ação imunoreguladora. A concentração destes nutrientes requerida na dieta para manter a saúde e a produtividade é afetada pelo estado fisiológico dos animais.

Uma das áreas da pesquisa que mais tem atraído a atenção dos técnicos em avicultura ultimamente é a imunomodulação através da nutrição. Há muitos trabalhos publicados, nos quais os efeitos de doses de vitaminas, minerais e aminoácidos sobre a imunidade humoral e celular têm sido relatados. Entre os imunoestimulantes mais estudados estão o Zn orgânico e a Vit E (JORGE NETO; DARI, 2000).

A Vit E tem uma atuação importante sobre o sistema imunológico, seja devido a sua influência sobre a proliferação das células que compõe o sistema imunológico (TENGERDY; BROWN, 1977) e de anticorpos (MAURICE et al., 1993; TENGERDY; BROWN, 1977), ou devido a sua ação antioxidante e protetora da integridade das membranas. O perfeito funcionamento do sistema imunológico depende da integridade das células que o compõe.

Estas células são necessárias em maior quantidade durante os desafios de defesa do organismo provocados pelos patógenos (FERKET, 1997).

O uso do Zn orgânico, é uma estratégia que pode beneficiar o desempenho das aves (matrizes, poedeiras e frangos de corte) na medida em que participa da estrutura de cerca de 160 enzimas (metaloenzimas) em diferentes espécies animais, maximizando as respostas aos desafios encontrados a campo (KIDD et al., 1996). O Zn fornecido em uma molécula orgânica estável no sistema digestivo do animal e eficientemente absorvida é capaz de aumentar os níveis circulantes deste mineral. Um nível mais adequado de Zn no sangue influencia de vários modos o desempenho das aves, tornando a resposta imunológica mais efetiva e mais prolongada (JORGE NETO; DARI, 2000).

Um experimento conduzido por Downs et al. (2000), mostrou o benefício de se utilizar o Zn (40 ppm na dieta) e a Vit E (48 UI/kg na dieta) na incidência e severidade da celulite em frangos de corte. Interessante ressaltar, que a inclusão apenas da Vit E reduziu porcentagem de lesões leves, mas não conseguiu diminuir a severidade das lesões. A interação do Zn e da Vit E produziram um efeito aditivo, assim presume-se que a interação destes nutrientes pode também melhorar a resposta imunológica humoral e o desempenho das aves.

Ainda hoje, se requer investigação quanto à relevância e as vantagens de se lançar mão de suplementos nutricionais com habilidade de se potencializar o funcionamento do sistema imunológico, podendo, por conseguinte, melhorar o desempenho de produtividade de criação de aves domésticas e ser economicamente vantajosos (MONTASSEIR, 1998)

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência de diferentes níveis de inclusão de Zn e de Vit E, isolados e associados nas rações de frangos de corte vacinados contra a doença de Newcastle (DNC) na resposta imunológica humoral, no desempenho dos frangos e no rendimento de carcaça.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo revisaremos as principais características do Zn e da Vit E, do sistema imunológico das aves, dos testes sorológicos e da vacinação utilizada neste experimento

### 2.1 VITAMINAS

As vitaminas são nutrientes essenciais para o desenvolvimento animal e por participar como cofatores em mais de trinta reações metabólicas e permitir a maior eficiência dos sistemas de síntese no organismo animal. Elas são classificadas em hidrossolúveis e lipossolúveis, sendo que a deficiência das mesmas na dieta pode causar distúrbios irreversíveis para o crescimento animal. As aves têm capacidade de síntese de algumas vitaminas, no entanto, a adição dos complexos vitamínicos nas dietas de frango garante o bom desenvolvimento, e respostas importantes para a sanidade animal, como, por exemplo, a resposta imunológica (RUTZ, 2002a).

As vitaminas estão presentes nos ingredientes utilizados nas dietas ou podem ser suplementadas em forma de premix (aproximadamente 0,005% da dieta) (RUTZ, 2002b).

Geralmente nutricionistas fornecem níveis mínimos necessários para o máximo desempenho e lucro, acrescidos de margem de segurança baseados em experiências práticas. Os critérios utilizados para determinar as exigências são: determinar os fatores na granja que influenciam a suplementação vitamínica, determinar os objetivos a serem alcançados com o



mínimo de custo, e determinar uma margem de segurança para fatores estressantes que possam vir a aparecer entre lotes e locais (COELHO; MCNAUGHTON, 1995).

Dentre outras funções, as vitaminas participam no metabolismo como imunomoduladores para melhorar as funções imunológicas e a resistência a infecções em aves e outros animais domésticos (RUTZ, 2002a).

### **2.1.1 Vitamina E**

A Vit E, um micronutriente essencial para humanos e para muitos animais (SCHÜEPP; RETTENMAIER, 1994), pertence à classe de antioxidantes lipossolúveis, consistindo de quatro isômeros de tocoferóis (formas saturadas) e quatro isômeros dos tocotrienóis (formas insaturadas) ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) (HALLIWELL; ARUOMA, 1997), os quais diferem no número e na posição do grupo metil no anel cromanol (SCHÜEPP; RETTENMAIER, 1994). O  $\alpha$ -tocoferol é o mais reativo dos tocoferóis e atua como melhor antioxidante, quando comparado com seus homólogos  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$ -tocoferol. A Vit E pode ser encontrada na forma natural ou sintética. Ela é encontrada em óleos vegetais, ovos, fígado, legumes e, em geral, plantas verdes. Já as formas comerciais mais comuns são o acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol ou acetato de d- $\alpha$ -tocoferol, sendo a primeira forma considerada como padrão internacional (um mg iguala uma UI). A forma esterificada (acetato) confere estabilidade à vitamina, mas não permite ação antioxidante. É importante salientar que a forma alcoólica (tocoferol), que é a que ocorre naturalmente, está sujeita a destruição no trato digestivo. Na forma esterificada, isto não ocorre. O acetato é prontamente clivado na parede intestinal e a forma alcoólica é então absorvida, permitindo assim que a vitamina exerça a sua função antioxidante (MCDOWELL, 1989). Assim, a

absorção da Vit E ocorre no intestino delgado onde é rapidamente hidrolizada da sua forma esterificada por lipases. A biliar é necessária para a sua absorção, pois atua na formação de micelas. A Vit E, então, é incorporada em portomicrons, que são transportados ao fígado. Subsequente, se ligam às proteínas de muito baixa densidade, sendo então transportada para os tecidos. A Vit E pode ser encontrada em concentrações mais elevadas no fígado, adrenais, rins, miocárdio e tecido adiposo (RUTZ, 2002a).

Nos animais, a Vit E está presente em todas as membranas celulares, lipoproteínas do plasma e células sanguíneas (HALLIWELL; ARUOMA, 1997). Estruturalmente, ela reside entre ácidos graxos componentes de fosfolípidios. Assim, a Vit E exerce a sua função mais conhecida, qual seja a de antioxidante natural. Nesta função também atuam outras substâncias lipossolúveis denominadas de carotenóides. Além destes compostos, este papel é coadjuvado intracelularmente por compostos reconhecidamente de natureza hidrossolúvel como a vitamina C e a glutathione peroxidase dependente de selênio (RUTZ, 2002a).

Todos os elementos do sistema antioxidante interagem entre si de forma eficiente. Esta interação provavelmente inicia ao nível de absorção de nutrientes e se continua no metabolismo. Por exemplo, o selênio dietético poupa a Vit E, de forma que galináceos apresentam concentrações mais elevadas de Vit E no plasma ao receberem dietas suplementadas com selênio (THOMPSON; SCOTT, 1970). Por outro lado, a Vit E mantém o selênio no organismo de uma forma ativa, impedindo a sua perda no organismo (MCDOWELL, 1989).

Os efeitos da Vit E são usualmente ligados aos níveis de selênio. A carência de Vit E e selênio em pintos tem sido relacionada à diátese exudativa e distrofia muscular e encefalomalácea (COMBS, 1991; LEESON; SUMMERS, 2001).

As células do sistema imunológico e fagocitário são caracterizadas por apresentarem mitose acelerada podendo sofrer alterações provocadas por radicais livres, peróxidos e

superóxidos. Esta situação é freqüentemente observada em processos de fagocitose, onde macrófagos produzem e secretam compostos reativos para atacar organismos invasores. Parte deste efeito refere-se à produção de óxido nítrico produzido por macrófagos ativados, resultando em molécula imunoregulatória importante e citotóxica para células tumorigênicas e microorganismos (LORSBACH et al., 1993; NATHAN; XIE, 1994). A síntese de óxido nítrico por macrófagos de aves é inibida durante infecção viral (LYON; HINSHAW, 1993). Além disso, Gore e Qureshi (1997) observaram que macrófagos de embriões de aves recebendo 10UI de Vit E no ovo produziram mais nitrito quando expostos a lipopolissacarídeos bacterianos *in vitro*. Os autores postularam que a Vit E pode aumentar a afinidade dos receptores da membrana de macrófagos para ativação, tal como lipopolissacarídeos, ou aumentar a síntese de óxido nítrico, resultando maior produção de óxido nítrico. Assim, a inoculação de Vit E no ovo aumenta o sistema imunológico humoral e celular. Infelizmente, estes compostos não só destroem os agentes invasores como também produzem lesões nas suas próprias estruturas e em tecidos adjacentes. A Vit E neutraliza o efeito autodestruidor que o oxigênio reativo exerce ao manter a integridade celular (FINCH; TURNER, 1996). Um possível mecanismo desta maior imunidade pelo uso da Vit E em perus poderia ser a regulação descendente da biossíntese de prostaglandinas (PGE), que é considerada como inibidora para vários parâmetros imunológicos. Certamente foi o que ocorreu uma vez que monócitos/macrófagos de peruzinhos do grupo exposto a Vit E durante a fase embrionária produziram níveis mais baixos de PGE quando comparados com os controles de exposição simulada (GORE; QURESHI, 1997). Esta observação daria suporte à pressuposição de Franchini et al. (1988) de que a Vit E é importante durante o início da ontogenia do sistema imunológico. O regime de exposição embrionária permite que possam ser alcançados níveis plasmáticos de Vit E significativamente mais elevados no dia da eclosão (GORE; QURESHI, 1997).

A Vit E melhora o sistema imunológico por estimular a atividade da glutathione peroxidase de macrófagos e neutrófilos circulantes e também é relatada como estimulante da atividade de linfócitos T. Tem sido mencionado aumento na atividade fagocítica e de produção de anticorpos contra diversos antígenos (LEESON; SUMMERS, 2001).

Foram provavelmente Tendergy et al. (1972) os primeiros a observar aumento significativo na resposta imunológica humoral de aves suplementadas com excesso de Vit E e quando sensibilizadas antígenicamente com hemácias de carneiro.

A suplementação de Vit E na dieta de ratos, aumentou a resposta imunológica destes animais contra hemácias de carneiro, estimulando principalmente a produção de imunoglobulina (Ig) G (TENGERDY et al., 1973).

Mecanismo de ação alternativo da Vit E junto ao sistema imunológico está relacionado com a sua participação na síntese de eicosanóides que modulam a produção de PGE e leucotrienos. As PGE são imunossupressoras, enquanto que os leucotrienos são estimulantes do sistema imunológico (STILL, 1995 apud RUTZ et al., 2002b, p. 108)<sup>1</sup>. Tendo em vista que os macrófagos são o principal tipo de célula responsável pela produção de PGE (ADEREM et al., 1985), a Vit E apresenta papel vital na redução da produção de PGE ao antagonizar a peroxidação do ácido araquidônico, limitando a entrada de percussores na via das PGE. Likoff et al. (1981) demonstraram que a função fagocítica de aves recebendo 300ppm de Vit E era aumentada. Este fenômeno foi atribuído à redução nos níveis endógenos de PGE em pintos arraçados com dietas contendo altos níveis de Vit E, comparativamente aos animais que receberam dietas sem a suplementação desta vitamina.

Outro envolvimento da Vit E com o sistema imunológico está associado com a síntese de interferon, que é uma glicoproteína que inibe de maneira não específica à replicação viral. Quando uma célula for invadida por um vírus, o seu material genético desencadeia a produção

---

<sup>1</sup> STILL, P. Pet Forum'95. April, p. 3-4, 1995.

de interferon. Este tem a capacidade de sair da célula infectada e situar-se em células vizinhas, nas quais é capaz de induzir um estado antiviral ao gerar uma diminuição da atividade nuclear que impede, ou pelo menos dificulta seriamente a invasão de células vizinhas por outro vírus. Franchini et al. (1990b) relataram níveis de interferon mais elevados após a vacinação de frangos de corte com vírus da DNC que tinham recebido altos níveis de Vit E (325ppm) na dieta.

O National Research Council (NRC) (1994) sugere a exigência de 12mg de Vit E/kg de dieta para frangos de corte durante todo o período de criação. No entanto, a suplementação de níveis de Vit E na dieta em até 20 a 25 vezes maiores do que a exigência sugerida pelo NRC (1994) tem sido mencionada nos trabalhos para o período inicial ou para toda a fase de criação das aves, ou ainda na fase que antecede ao abate, com o objetivo de maximizar a resposta imunológica (COLNAGO et al., 1984; TENDERDY; NOCKELS, 1973).

Diversos estudos têm falhado em mostrar melhoria na resistência contra doenças ou imunocompetência, devido à sua suplementação dietética, e assim Qureshi et al. (1993) relataram que a suplementação de Vit E (100 ou 250UI/kg da dieta) não afetaram produção de anticorpos de pintos de corte, ainda que o número de macrófagos tenha sido aumentado. Em perus, Sell et al. (1997) não conseguiram demonstrar efeitos benéficos de 12 ou 300UI de Vit E/kg da dieta sobre mortalidade ou patologia induzida por *Escherichia coli*. Uma variedade de fatores, como carga genética (YANG et al., 2000), nível de estresse (MCLLOROY et al., 1993) e a quantidade de Vit E na dieta basal podem explicar a heterogeneidade de respostas encontradas.

As aves jovens são particularmente sensíveis ao conteúdo de Vit E presente na dieta. Está bem documentado que os peruzinhos tem uma capacidade de absorver Vit E mais baixa que os pintinhos (BARTOV, 1983). Franchini et al. (1988, 1990c) mostraram que a Vit E administrada nas dietas de perus em doses de 30 a 360ppm não teve efeito sobre os

parâmetros sanguíneos, enquanto tratamentos similares realizados em frangos de corte produziram uma diminuição no número de eritrócitos, queda no hematócrito e menores níveis de hemoglobina. Esta redução foi atribuída a uma menor absorção de Vit E. Níveis mais elevados de Vit E (até 360ppm) melhoraram a qualidade da carne, bem como a estabilidade dos lipídios nos tecidos de carcaças armazenadas por 5 meses. O ponto a ser enfatizado é que para se alcançar os efeitos positivos obtidos com a Vit E, é preciso que ela seja administrada precocemente, e em níveis suficientemente elevados para se traduzir nos resultados esperados (FERKET, 1999).

Os efeitos imunomoduladores positivos da Vit E são observados quando aves jovens são desafiadas por microrganismos como o vírus da DNC e *Pasteurella*. Em relação a grupos com baixos teores de Vit E (30ppm), Franchini et al. (1990a) verificaram em perus que o uso de 360ppm na dieta, aumenta a resposta de anticorpos diante dos dois antígenos. A vacinação permite obter respostas melhores se a Vit E for usada como adjuvante, substituindo uma parte do óleo mineral, como na vacina com o vírus da DNC (FRANCHINI et al., 1995).

Quando comparados com níveis basais normais de Vit E, os suplementos na dieta melhoram a função imunológica humoral (MAURICE et al., 1993; TENDERDY et al., 1972; TENDERDY; BROWN, 1977) e as funções fagocitárias dos macrófagos em frangos (TENDERDY; BROWN, 1977). Entretanto Friedman et al. (1998) sugeriram que a suplementação de altos níveis de Vit E às matrizes pode, na verdade, ser prejudicial para a função imunológica, pelo menos em pintinhos jovens.

Ferket et al. (1995) criaram perus machos de acordo com um programa de alimentação comercial usual, com dietas contendo níveis de Vit E correspondendo a 1, 5, 10 e 25 vezes as recomendações do NRC para esta vitamina. A sobrevivência melhorou com a suplementação de Vit E acima dos níveis recomendados. É provável que esta resposta seja devida ao aumento da função de macrófagos e a responsividade em termos de produção de anticorpos destes

perus diante do desafio experimental. O mecanismo desta modulação pode ser mais definido e específico em nível celular que anteriormente se acreditou. Erf et al. (1998b), por exemplo, demonstraram que os frangos de corte alimentados com níveis elevados de Vit E na dieta (87mg de Vit E/kg de ração) apresentavam uma maior diferenciação de timócitos CD4+CD8 e uma maior proporção de timócitos CD4+CD8- para CD4-CD8+. Por isso, esta resposta implica em que as respostas imunológicas que exigem uma diferenciação para a via inflamatória ou humoral seriam facilmente conseguidas em aves que já tem um *pool* preexistente maior de linfócitos T auxiliares CD4+ (TH1 e TH2). A administração de Vit E durante os primeiros estágios de desenvolvimento pode ser até mais importante, uma vez que agora está claro que os frangos mais jovens (duas semanas de idade) podem ser menos imunocompetentes que as aves mais velhas (com 7 semanas de idade) (ERF et al., 1998a).

## 2.2 MINERAIS

Todos os organismos vivos, tanto animais como vegetais, apresentam quantidades variáveis de minerais, que são necessários para manter seu metabolismo fisiológico. Por isso, os minerais são de grande importância para o desenvolvimento das espécies, podendo atuar como componentes estruturais de órgãos e tecidos do corpo, como constituinte de fluidos na forma de eletrólitos e como catalizadores de processos enzimáticos e hormonais. Constantemente têm-se buscado a quantidade e a forma ideal de suplementação mineral na dieta, uma vez que a sua deficiência pode causar grandes prejuízos para o organismo animal. Definem-se elementos minerais como sendo elementos químicos que não podem ser decompostos ou sintetizados por reações químicas ordinárias, apresentando-se na forma sólida

e cristalina. Os minerais são adicionados à dieta na sua forma inorgânica, entretanto, atualmente, têm-se utilizado minerais complexados na suplementação, buscando-se uma maior biodisponibilidade desses nutrientes. A resposta das aves às concentrações dos minerais na dieta pode ser suplementada em níveis baixos, intermediários ou altos. O conhecimento do limite entre esses dois extremos deve ser constantemente observado quando se busca manter o equilíbrio fisiológico animal (MAIORKA; MACARI, 2002).

### **2.2.1 Zinco**

O Zn é classificado como micromineral ou elemento traço, que é um mineral necessário em pequena quantidade pelos organismos, entretanto tem papel fundamental em várias rotas metabólicas essenciais para o crescimento e a vida. O Zn é co-fator de muitas enzimas, como a lactato desidrogenase, fosfatase alcalina e anidrase carbônica. O mecanismo de absorção do Zn pela mucosa do enterócito não está totalmente elucidado, mas alguns fatores parecem influenciar na absorção desse mineral. Trabalhos têm demonstrado que, em pintos, a absorção de Zn ocorre tanto no proventrículo como no intestino delgado. No interior do enterócito, o Zn pode ligar-se a uma proteína produzida pelo fígado chamada metalotioneína que tem alta afinidade pelo Zn. O papel da metalotioneína é regular a quantidade de Zn que entra no corpo. A síntese dessa metalotioneína é influenciada tanto pelo nível de Zn da dieta quanto pela concentração plasmática de Zn (MAIORKA; MACARI, 2002).

O efeito da nutrição mineral sobre a resposta imunológica de aves tem sido pouco estudado. Entre os minerais traços, somente selênio e Zn têm sido estudados por seus efeitos sobre a função imunológica e os resultados, quando da deficiência de Zn tem sido conflitantes



(LATSHAW, 1991). Pimentel e Cook (1988) relataram nenhum efeito sobre a resposta imunológica de pintos de corte alimentados com 8mg de Zn/kg, embora este nível tenha deprimido crescimento e o consumo de ração.

Os resultados obtidos por Bettger et al. (1980) indicaram que algumas patologias associadas com deficiência de Zn podem ser prevenidas por altos níveis de antioxidante nas dietas, e Vit E foi o mais potente agente protetor contra o problema da deficiência de Zn, assim mostraram uma significativa interação fisiológica entre a Vit E e Zn suplementados na ração de frangos de corte. Parece que as células das aves deficientes em Zn podem beneficiar a uma maior incorporação dos níveis de Vit E na estrutura de membranas. É postulado que o Zn protege contra os danos peroxidantes e promove a integridade das membranas.

Bunk et al. (1989) conduziram experimento em ratos e constataram que a dieta deficiente em Zn reduz significativamente a concentração de Vit E no plasma além de resultar também em alterações na reprodução e na função imunológica.

O Zn é um componente essencial de numerosos sistemas enzimáticos. A ação metabólica destes sistemas inclui metabolismo de carboidratos e energia, síntese protéica, metabolismo de ácidos nucléicos, integridade de tecido epitelial, divisão e reparação celular e utilização e transporte de vitamina A. Adicionalmente, o Zn, desempenha importante papel no sistema imunológico e certos hormônios reprodutivos. O conteúdo dietético recomendado de Zn para frangos de corte é 40ppm, conforme o NRC (1994). Também se acredita que o Zn desempenha importante papel na função imunológica e resistência a doenças (KIDD et al., 1996) e uma nutrição adequada de Zn é crucial para o desenvolvimento, manutenção e função normais do sistema imunológico e as células a ele associadas, incluindo os heterófilos, basófilos, macrófagos e linfócitos T (DARDENNE; BACH, 1993). Os heterófilos são as primeiras células imunológicas a alcançar o local da infecção (TIZARD, 2002) e possuem em suas células uma alta concentração de fosfatase alcalina (uma metaloenzima que contém

zinco), particularmente durante o curso de uma doença infecciosa (BIESEL, 1967 apud FERKET 1999, p. 62)<sup>2</sup>. Os heterófilos também regulam um mecanismo que reduz o Zn do plasma, prevenindo assim, as infecções sistêmicas por bactérias que utilizam o Zn para proliferar (WEINBERG, 1971). Deste modo, a concentração plasmática de Zn parece influenciar diretamente as funções dos leucócitos circulantes e a deficiência de Zn prejudica as funções dos heterófilos (VRUWINK et al., 1993).

A deficiência nutricional de Zn resulta na ineficiência da resposta imunológica a patógenos bacterianos, virais e parasitários (PEKAREK et al., 1977; TENNICAN et al., 1979) e em uma involução do timo, depleção de timócitos no timo, diminuição das respostas tardias de hipersensibilidade, dos números de células T periféricas e das funções da célula T auxiliadora (GOOD et al., 1982). Em aves jovens a deficiência de Zn causa retardo no crescimento, engrossamento das pernas, aumento das juntas, escamação da pele, escassez de penas e redução no consumo de ração (LEESON; SUMMERS, 2001).

As concentrações plasmáticas de Zn em aves diminuem significativamente sob infecção (HILL, 1989; TUFFT et al., 1988). Demonstrou-se que o Zn inibe a multiplicação bacteriana (SOBOCINSKI et al., 1977), enquanto algumas bactérias utilizam Zn como fator de crescimento (KLASING, 1984).

A biodisponibilidade do Zn-metionina tem apresentado resultados contraditórios. Em pintos, Zn-metionina tem mostrado ser 206% mais biologicamente disponível do que o sulfato de Zn e tem uma disponibilidade maior que (WEDEKING et al., 1992) ou igual ao zinco inorgânico (PIMENTEL et al., 1991).

Kidd et al. (1994) mostraram que a adição de 30 ou 45ppm de Zn a partir de Zn-metionina a uma dieta para perus aumentou significativamente a resposta mediada por PHA-P

---

<sup>2</sup> BIESEL, W.R. Neutrophil alkaline phosphatase changes in tularemia, sandfly fever, Q fever and noninfectious fevers. **Blood**, v. 29, p. 257-268, 1967.

nos peruzinhos. A resposta PHA-P inflamatória é uma indicação de melhor capacidade de resposta imunológica mediada por células.

Contudo, outras pesquisas (KIDD et al., 1992; PIMENTEL et al., 1991) não demonstraram influência do Zn dietético sobre a resposta imunológica de pintos.

Mohanna e Nys (1999) não observaram diferença nos títulos de anticorpos entre os grupos de galinhas que foram alimentadas com dietas contendo várias concentrações de Zn.

Hill (1989) demonstrou que a suplementação da dieta de pintos de corte com 500mg de Zn/kg não foi efetiva em prevenir um decréscimo nos níveis de Zn no soro, após infecção com *Salmonella Gallinarum*, assim este autor afirma que, ainda que aves são continuamente expostas a microrganismos ubiqüitários, é importante se fornecer adequado Zn dietético para resistência a doenças, e que o papel interativo do Zn sobre a função imunológica e resistência contra doenças deve ser objeto de pesquisas.

### 2.3 SISTEMA IMUNOLÓGICO DAS AVES

O sistema imunológico das aves funciona de maneira semelhante ao dos mamíferos (VAINIO; IMHOF, 1995), mas existem algumas diferenças que necessitam ser entendidas por aqueles que trabalham com esse animal. A estrutura e a diferenciação dos órgãos linfóides, nas aves, apresentam diferenças marcantes, quando comparadas às dos mamíferos (JEURISSEN et al., 1994). O frango é originado de cruzamentos de linhagens de *Gallus gallus* e não apresenta linfonodos. As aves apresentam um órgão único, denominado bolsa de Fabricius que possibilitou a identificação dos linfócitos B e o entendimento da diferente funcionalidade entre os linfócitos T e B por Bruce Glick, em 1956 (GLICK, 1995). O timo

apresenta-se na forma de dois cordões de sete lobos cada, dispostos paralelamente ao longo das jugulares. Nessa espécie, é encontrada uma concentração de tecido linfóide na região oculonasal denominada glândula de Harderian. Também estão presentes os tecidos linfóides intestinais e aquele associado ao brônquio. A medula óssea, a bolsa de Fabricius, local do desenvolvimento e diferenciação dos linfócitos B sendo os responsáveis pela produção de anticorpos, e o timo, onde os linfócitos T desenvolvem-se e se diferenciam sendo responsáveis pelas reações de hipersensibilidade e citotoxicidade mediada por células, são considerados órgãos linfóides primários. O baço é classificado como órgão linfóide secundário ou periférico. As estruturas linfóides encontradas no trato gastrintestinal representam parte importante do sistema imunológico, principalmente devido ao fato de existirem inúmeros patógenos que podem estar presentes na luz do tubo digestivo. Para o frango, essa porção do sistema imunológico representa papel fundamental, já que patógenos de importância econômica multiplicam-se no epitélio intestinal. Num órgão linfóide, existem compartimentos separados onde ocorrem apresentações de antígenos pelas células apresentadoras de antígeno (APC) aos linfócitos T, as interações entre os linfócitos T e B, e a produção de Ig. Esses microambientes são fundamentais no desenvolvimento das diferentes respostas imunológicas (MORGULIS, 2002).

O sistema imunológico é dependente de três tipos de células: macrófagos, linfócitos B e linfócitos T. Em termos de desenvolvimento, estas células se originam da mesma célula peduncular dentro do mesênquima embrionário e saco vitelino no embrião e são supridas pela medula óssea nas aves mais velhas. Estas células pedunculares se diferenciam em macrófagos e outros leucócitos, ou entram nos órgãos linfóides primários para maior desenvolvimento. Durante a primeira semana do desenvolvimento embrionário, os linfócitos se multiplicam e se diferenciam dentro do timo e da bolsa de Fabricius e tornam-se seletivos para gerar respostas aos diversos antígenos que vão enfrentar durante a vida da ave. A partir da terceira semana de

desenvolvimento embrionário, os linfócitos B e T migram da bolsa de Fabricius e do timo, respectivamente, para o sistema linfóide periférico, que inclui o baço, a medula óssea e agregados linfóides nos sistemas respiratório e digestivo. A bolsa de Fabricius e o timo são essenciais durante as primeiras semanas pós-eclosão, mas sofrem involução fisiológica à medida que a ave atinge a maturidade sexual, quando a produção de células nos sítios periféricos os substituem. Diversos fatores interferem na resposta imunológica das aves, entre eles podemos destacar: fatores nutricionais, fatores genéticos e fatores relacionados ao manejo (QURESHI, 1998; QURESHI et al., 1998).

O sistema imunológico das aves pode ser dividido em imunidade humoral e imunidade celular. A imunidade humoral é caracterizada por uma função adaptativa do sistema imunológico através do qual os anticorpos são produzidos em resposta a um antígeno. A imunidade celular envolve mecanismos através dos quais células infectadas com agentes estranhos, tais como vírus, são destruídos, o que é feito diretamente por um efetor (célula T ativada) em contato com a célula ativada (WEINSTOCK et al., 1989).

A imunidade humoral e a imunidade mediada por células têm funções únicas, mas funcionam de forma cooperativa para derrotar o agente invasor. A imunidade humoral é estimulada pelas Ig produzidas pelos linfócitos B. A célula B usa o antígeno apresentado pelo macrófago para construir uma Ig específica, mas ela requer assistência de uma célula T auxiliar ativada para produzir uma Ig específica. Então, a célula B ativada prolifera em plasmócitos (produtores de Ig) ou em células de memória, que podem ser rapidamente recrutadas para produzir Ig se houver novo contato com o agente infeccioso. A Ig liga-se ao seu patógeno alvo específico e o inativa, ou o marca para ser destruído por outro mecanismo do sistema imunológico. As imunoglobulinas são classificadas segundo sua estrutura molecular como IgM, IgE, IgD, IgA e IgG, e cada uma desempenha um papel diferente durante a resposta imunológica. Avaliar o estado imunológico é importante para compreender

a etiologia de uma doença e determina possíveis soluções ou medidas preventivas. A avaliação humoral estima a capacidade da ave estabelecer uma resposta imunológica através de níveis de Ig no plasma ou no soro (FERKET; QURESHI, 1998).

Klasing (1998) comenta que fatores relacionados à genética das aves, a frequência de sua exposição a patógenos e a eficácia dos programas de vacinação são detrimento à incidência de doenças infecciosas em aves. Entretanto, características dietéticas podem modular a susceptibilidade das aves para doenças infecciosas devido ao nível de nutrientes ou dos tipos de ingredientes utilizados nas dietas que eventualmente podem apresentar importância crítica. Do ponto de vista prático, a susceptibilidade da ave a uma infecção pode ser subdividida em dois componentes, resistência e persistência de produção. Resistência se refere à capacidade de uma variedade de sistemas anatômicos e fisiológicos, incluindo o sistema imunológico em excluir patógenos. Persistência de produção se refere à capacidade de manter a sua produtividade (crescimento, eficiência alimentar, produção de ovos) durante o desafio sanitário.

Há muitas situações nas quais as dietas, incluindo níveis vitamínicos, que maximizam o desempenho produtivo, não propiciam a máxima proteção imunológica. Isto pode ser facilmente verificado ao examinar tabelas de exigências nutricionais que otimizam o desempenho produtivo em condições de ausência quase que completa de desafio sanitário. É importante ressaltar que a deficiência crônica severa de micronutrientes (vitaminas e minerais) é mais debilitante ao sistema imunológico do que energia e proteína.

Em uma apreciação sobre a interação entre mecanismos de modulação nutricional e resistência a doenças infecciosas, Klasing (1998) estabeleceu o papel de nutrientes e ingredientes de várias categorias, destacando que todos os nutrientes são substrato para o sistema imunológico e a Vit E tem ação regulatória direta sobre o sistema imunológico e na redução de patologia. O sistema imunológico é dependente das funções do metabolismo

celular. O Zn é ubíquo no metabolismo celular e nas funções, tanto estruturais como catalíticas das metaloenzimas (O'DELL, 1992).

Qureshi (2002) cita que uma melhoria imunológica via alimentação poderia reduzir a necessidade do uso de substâncias químicas como melhoradores do crescimento tais como antibióticos. Enquanto uma melhoria imunológica é um aspecto desejável na produção avícola, ao mesmo tempo tem que se considerar os possíveis efeitos patológicos mediados via uma super estimulação do sistema imunológico.

#### 2.4 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

O teste ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) é uma reação sorológica que se baseia no uso de antígenos e anticorpos marcados com enzimas, na qual o complexo resultante possui atividade imunológica e enzimática. Por possuir um de seus componentes (antígeno ou anticorpo) marcados com uma enzima ligado a um suporte imunoabsorvente, o complexo formado torna-se imobilizado. Dessa forma, com a adição de um substrato cromogênico específico à enzima, ocorrerá o desenvolvimento da revelação sob a forma de cor. O teste de ELISA detecta e mensura principalmente as Ig do tipo IgG, podendo detectar quantidades muito pequenas de anticorpos. É uma técnica simples, específica, sensível, rápida e automatizada, podendo ser empregado para o diagnóstico da DNC. É importante salientar que não devem ser comparados resultados de dois métodos sorológicos distintos, por exemplo, inibição da hemaglutinação (HI) e ELISA, dado que cada método mede a formação do complexo antígeno-anticorpo de maneira distinta, existindo também variações na tomada de amostras em uma população de aves. Por essa razão, muitas vezes se acompanha níveis de

títulos individuais com uma média geométrica de título (GMT) de anticorpos para a população de aves. A análise dos resultados sorológicos e sua perfeita interpretação dos títulos imunológicos permitem uma avaliação precisa e coerente do programa de vacinações (SANTOS; SILVA, 2000).

## 2.5 INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO (HI)

Alguns vírus possuem em sua superfície estruturas capazes de se combinar com receptores específicos, presentes nas hemácias de determinadas espécies e produzir o fenômeno de hemaglutinação. Tais estruturas, denominadas hemaglutininas, constituem-se usualmente de glicoproteínas. Alguns agentes infecciosos aviários têm como propriedade aglutinar hemácias de mamíferos e de aves; os anticorpos dirigidos contra esses agentes podem inibir essa hemaglutinação. Um dos agentes mais comuns em medicina avícola com essa propriedade é o vírus da DNC. Ao contrário da reação de hemaglutinação, que simplesmente revela uma atividade biológica do agente, a reação de HI é um fenômeno que pode ser empregado como método para identificação de um agente específico ou para medir os anticorpos séricos. O teste de HI é uma prova sorológica quantitativa, qualitativa, sensível e específica, medindo principalmente as Ig do tipo IgG (SANTOS; SILVA, 2000).



## 2.6 VACINAÇÃO CONTRA A DOENÇA DE NEWCASTLE

No Brasil, o controle da DNC em frangos de corte se faz por meio de imunização ativa, com vacinas vivas de caráter lentogênico, sendo empregadas as cepas B<sub>1</sub> e LaSota.

Na DNC, a avaliação sorológica de aves doentes ou vacinadas é amplamente utilizada por ser econômica e possibilitar considerações a respeito da imunidade, sendo a reação de HI e teste ELISA, métodos rápidos para a aferição de anticorpos humorais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritas as principais etapas da realização do experimento.

#### 3.1 LOCAL E PERÍODO

O experimento foi realizado no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, *Campus* de Pirassununga, Estado de São Paulo, localizado à 21°8" de latitude sul e 47°25'42" de longitude oeste a uma altitude de 634 metros; o clima da região é do tipo Cwan de Köppen, ou seja, subtropical, com inverno seco a verão quente e chuvoso (OLIVEIRA; PRADO, 1984).

Empregou-se galpão de alvenaria dividido em 36 boxes, de 4,25m<sup>2</sup> cada, sendo a criação em piso.

O trabalho experimental foi conduzido no período compreendido entre o dia 24 de setembro de 2003 a 6 de novembro de 2003.

Durante o período de alojamento das aves, as condições ambientais mostraram os índices característicos da região, não tendo havido ocorrência climática anormal que pudesse provocar alterações no peso das aves ou em sua produtividade.

### 3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 1440 pintos de um dia de idade, com peso médio de 47,03g, de linhagem comercial Hybro, metade de cada sexo, criados até a idade de 42 dias.

Os animais foram distribuídos em 36 parcelas experimentais (boxes) com 40 aves (20 machos e 20 fêmeas) em cada boxe.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com os tratamentos em um arranjo fatorial 3 x 3, correspondendo a três níveis (0, 12 e 120mg/kg) de incorporação de Vit E às rações e três níveis (0, 40 e 400mg/kg) de incorporação de Zn, totalizando, 9 tratamentos (A, B, C, D, E, F, G, H, I) com 4 repetições.

Para as variáveis estudadas do desempenho dos frangos (ganho médio diário, ganho médio de peso vivo, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade) foram feitas medidas repetidas no tempo, nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação das aves. Já para as variáveis relacionadas à imunidade (testes ELISA e HI), foram avaliados os soros das aves colhidos nos 14º, 28º, 35º e 41º dias de idade.

### 3.3 MANEJO E EQUIPAMENTOS

O manejo usado, bem como os equipamentos, foram os convencionalmente utilizados para a criação de frangos de corte, com as devidas adaptações para um aviário experimental.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas nos boxes experimentais, as temperaturas médias, máxima e mínima foram anotadas diariamente,

utilizando-se termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos do galpão, apenas para efeito de controle.

O material empregado como cama foi a maravalha de eucalipto, e sempre que se observou cama molhada, ela foi removida e substituída por outra, evitando-se o desenvolvimento de bolor que pudesse prejudicar os frangos.

Foram realizados diariamente o manejo das cortinas, a lavagem dos bebedouros e a observação do nível das rações nos comedouros.

### 3.4 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

As rações experimentais foram formuladas de acordo com os níveis nutricionais rotineiramente praticados na criação comercial de frangos de corte, e ajustadas para terem os níveis de Zn e Vit E desejados.

Foram utilizados 9 tratamentos, que consistiram na adição de diferentes níveis de Zn e Vit E nas rações experimentais e todas as aves receberam essas rações formuladas do 1º ao 42º dia de vida. Foram utilizados três níveis de Vit E (DL 2 acetato de tocoferol); em pó, três níveis de Zn (carboaminofosfoquelato de Zn); em pó e foram adicionados à ração juntamente com os outros ingredientes da ração diretamente no misturador.

Os níveis de Zn e de Vit E suplementados na ração, estão apresentados na tabela 1, para as três fases de criação.

As rações foram elaboradas a base de milho e soja, sendo isoprotéicas e isocalóricas; suas fórmulas assim como os níveis de proteína bruta e energia metabolizável para cada uma

das fases de criação: inicial (1 a 21 dias de idade), crescimento (22 a 35 dias de idade) e final (36 a 42 dias de idade) podem ser observadas na tabela 2.

Tabela 1 - Níveis de Vit E (mg/kg) e de Zn (mg/kg) utilizados nas dietas das aves por tratamento, nas três fases de criação

Vit E <sup>1</sup>	Zn <sup>2</sup>		
	0	40	400
0	A	B	C
12	D	E	F
120	G	H	I

<sup>1</sup>DL 2 acetato de tocoferol

<sup>2</sup>carboaminofosfoquelato de Zn.

Tabela 2 - Composição porcentual e análise calculada das rações nas diferentes fases de criação

	Ração inicial	Ração crescimento	Ração final
	%	%	%
Ingredientes			
Milho	52,26	57,11	63,70
Farelo de soja	40,13	34,00	28,00
Óleo de soja	3,52	4,90	4,50
Sal	0,35	0,35	0,35
Calcário	1,24	1,60	1,60
Fosfato bicálcico	1,60	1,14	0,95
Metionina	0,24	0,21	0,18
Premix <sup>1</sup>	0,30	0,30	0,30
Inerte	0,36	0,39	0,42
Total	100	100	100
<b>ANÁLISE CALCULADA</b>			
Energia metabolizável (kcal/kg)	2950	3100	3150
Proteína (%)	22,5	20,0	18,0
Metionina (%)	0,35	0,32	0,30
Metionina + cistina (%)	0,71	0,65	0,60
Cálcio (%)	0,95	0,95	0,90
Fósforo disponível (%)	0,45	0,35	0,30

<sup>1</sup>Níveis das misturas do suplemento vitamínico mineral utilizado estão presentes na tabela 3.

Tabela 3 - Composição dos suplementos vitamínico-minerais (Vit-min) utilizados

<i>Suplemento Vit-min Inicial</i>	Vit. A, 2250000UI; vit. D <sub>3</sub> , 450000UI; vit. K, 360mg; vit. B <sub>2</sub> , 1130mg; vit. B <sub>12</sub> , 3750mcg; niacina, 7465mg; colina, 62250mg; pantotenato de cálcio, 2580mg; ferro14000mg; cobre, 12500mg; manganês, 14500mg; cobalto, 21mg; iodo, 150mg; selênio, 52mg; anticoccidiano (nicarbazina e monensina), 250000mg; promotor de crescimento (avilamicina), 2500mg; antioxidante (BHT), 1280mg; veículo qsq 1000g.
<i>Suplemento Vit-min Crescimento</i>	Vit. A, 1875000UI; vit. D <sub>3</sub> , 375000UI; vit. K, 270mg; vit. B <sub>2</sub> , 900mg; vit. B <sub>12</sub> , 2500mcg; niacina, 6270mg; colina, 48800mg; pantotenato de cálcio, 1990mg; ferro14000mg; cobre, 1750mg; manganês, 14500mg; cobalto, 21mg; iodo, 150mg; selênio, 43mg; anticoccidiano (nicarbazina e monensina), 250000mg; promotor de crescimento (avilamicina), 2500mg; antioxidante (BHT), 1280mg; veículo qsq 1000g.
<i>Suplemento Vit-min Final</i>	Vit. A, 1875000UI; vit. D <sub>3</sub> , 375000UI; vit. K, 270mg; vit. B <sub>2</sub> , 900mg; vit. B <sub>12</sub> , 2500mcg; niacina, 6270mg; colina, 48800mg; pantotenato de cálcio, 1990mg; ferro14000mg; cobre, 1750mg; manganês, 14500mg; cobalto, 21mg; iodo, 150mg; selênio, 43mg; anticoccidiano (nicarbazina e monensina), 250000mg; promotor de crescimento (avilamicina), 2500mg; antioxidante (BHT), 1280mg; veículo qsq 1000g.

### 3.5 VACINA E VACINAÇÃO

As aves foram vacinadas contra a DNC aos 14 dias de idade pela via ocular com vacina (liofilizada) industrializada (Fort Dodge) com vírus vivo, tipo B<sub>1</sub>, amostra LaSota. Assim, as doses vacinais foram recomendadas pelo laboratório. As vacinas foram diluídas em diluente na proporção de 30ml/1000 doses vacinais/1000pintos, correspondente a 0,03ml de dose vacinal ocular.

### 3.6 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

A seguir serão descritos os parâmetros avaliados referentes à imunidade humoral, ao desempenho e ao rendimento de carcaça das aves.

#### 3.6.1 Imunidade

Foi avaliado o estado de imunidade humoral das aves pré e pós-vacinal, utilizando-se os resultados das GMT de anticorpos humorais com o emprego das reações de HI e ELISA.

##### 3.6.1.1 Colheita de sangue

Aos 14 dias de idade das aves, antes da vacinação, foram colhidas aleatoriamente amostras de sangue de 5 aves de cada tratamento das respectivas repetições, por meio de punção cardíaca. Aos 21, 35 e 41 dias de idade das aves, foram colhidas aleatoriamente amostras de sangue de 10 aves de cada tratamento das respectivas repetições, através de punção ulnar. Após separação do soro através de centrifugação, as amostras obtidas de soro foram previamente inativadas a 56°C por 30 minutos, para remoção de inibidores inespecíficos da hemaglutinação, de acordo com Phillips (1973), acondicionadas em

microtubos estéreis e armazenadas em freezer (-20°C) até o momento dos exames. Estas amostras de soro foram submetidas à reação de HI e ao teste ELISA.

### 3.6.1.2 Teste ELISA

Em todos os soros obtidos no período experimental foi realizada a pesquisa de anticorpos contra o vírus da DNC, através do teste ELISA, conforme descrição do fabricante (Idexx Laboratories), a seguir:

Foi utilizado *Kit* comercial para detecção de anticorpos contra a DNC, composto por placas revestidas com antígeno contra DNC, controle positivo (anticorpos contra DNC de galinha, diluído e preservado com azida sódica), controle negativo (soro de galinha não reativo anti-DNC, preservado com azida sódica), conjugado de peroxidase de raiz forte, antianticorpo (anticorpo de cabra anti IgG de galinha) marcado com enzima peroxidase e preservado com gentamicina, tampão de diluente de amostra preservado com azida sódica, substrato cromogênio tetrametilbenzidina (TMB) e solução de interrupção.

O teste procedeu-se da seguinte maneira:

- Os reagentes contidos nos *Kits* foram deixados fora da geladeira até atingirem a temperatura ambiente, em média 25°C.
- As amostras foram diluídas em proporção de 1:500 com diluente de amostra (1µl de amostra com 500µl de diluente).
- Cada placa contém 96 pocinhos revestidos com o antígeno da DNC e foi distribuído 100µl de controle negativo, sem serem diluídos nas cavidades A1 e A2 e 100µl de controle positivo, sem serem diluídos nas cavidades A3 e A4. Nas 92 cavidades restantes A5 até H12,



distribuíram-se as amostras previamente diluídas. As placas foram incubadas durante 30 minutos à temperatura ambiente. A seguir, foram lavadas cada uma das cavidades com aproximadamente 350µl de água destilada repetindo-se as lavagens 3 a 4 vezes. Após a lavagem das cavidades, foi distribuído 100µl de conjugado em cada cavidade das placas e decorrido 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, repetiu-se novamente a lavagem das cavidades. Após, foi distribuído 100µl de substrato TMB em cada cavidade, aguardou-se 15 minutos e foram colocados em cada uma das cavidades 100µl de solução de interrupção, para parar a reação.

- A leitura das reações foi realizada em leitora Microplate-610 com 650 nm de absorvância. Os resultados foram dados em densidade óptica de acordo com a coloração das placas.

- Estes resultados foram enviados a um programa de computador FlockChek-Idexx para calcular os títulos de anticorpos de cada amostra, apresentando como resultado as GMT de anticorpos.

### 3.6.1.3 Teste HI

Em todos os soros obtidos no período experimental foi realizada a pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação para a DNC. Para este fim, utilizou-se como antígeno a estirpe lentogênica LaSota, do vírus da DNC.

Para esta reação empregou-se o método beta (vírus constante e soro diluído). Foi utilizada a microtécnica preconizada por Cunningham (1971). Com auxílio de micropipetas calibradas (25µl), seguiu-se às diluições duplas dos soros (a partir do soro não diluído no

sistema base 2) diretamente em antígeno-diluíente contendo quatro unidades hemaglutinantes (UHA), mantendo-se a microplaca por 30 minutos em temperatura ambiente (20°C). Decorrido esse tempo, adicionou-se 25µl de suspensão de hemácias de galinha a 1% em cada uma das cavidades da microplaca.

A seguir, incubou-se novamente o sistema em temperatura ambiente (20°C) e procedeu-se à leitura após a deposição total das hemácias nos controles (cerca de 40 minutos).

Somente as cavidades que apresentaram botão de hemácias igual às cavidades controles foram consideradas.

A validação do teste foi comparada com os resultados do soro controle negativo, que não apresentou título superior a 2<sup>2</sup> (1:4), e do controle positivo, para o qual o título pode apresentar-se com uma diferença de até uma diluição do título conhecido.

O título foi expresso mediante multiplicação do número de UHA usado pela recíproca da maior diluição do soro que inibia completamente a hemaglutinação.

Os resultados originais dos títulos foram transformados na escala transformada (logaritmo da recíproca do título na base 2) e calculada a GMT de anticorpos.

### **3.6.2 Avaliação do desempenho**

O peso das aves e o consumo de ração foram quantificados semanalmente a fim de se determinar o ganho de peso, o consumo de ração e conversão alimentar nos períodos de 1 a 21 dias (fase inicial); 22 a 35 dias (fase de crescimento); 36 a 42 dias (fase final) e de 1 a 42 dias de idade (período total).

As características avaliadas no desempenho dos animais foram determinadas da seguinte maneira:

- Ganho médio diário (GMD), em gramas, foi determinado pela diferença entre as pesagens semanais, dividida pelo número de dias do intervalo entre as pesagens e pelo número de aves do boxe.

- Ganho médio de peso vivo (GMPV), em gramas, foi obtido pela soma do peso vivo final de cada ave de cada boxe, dividida pelo número de aves de cada boxe.

- Consumo médio de ração (CMR), em gramas, foi obtido pela diferença entre a ração fornecida e a sobra de cada boxe, dividida pelo número de dias do intervalo entre as pesagens e número de aves do boxe.

- Conversão alimentar (CA), em gramas de ração/gramas de peso, foi obtida pela relação entre o consumo total de ração das aves e o ganho de peso em cada boxe.

- Mortalidade, em porcentagem, foi anotada diariamente e calculada pela relação entre o número de aves que morreram no período experimental pelo número inicial de aves no boxe multiplicada por cem.

### **3.6.3 Rendimento de carcaça e suas partes**

As aves foram abatidas aos 43 dias de idade, sendo utilizadas para esta avaliação 4 aves por repetição, ou seja, 10% da quantidade de aves alojadas inicialmente, totalizando portanto 144 aves. As aves foram selecionadas para estarem dentro de uma média, com peso mais ou menos 10% da média do boxe e foram marcadas individualmente com fitas adesivas nas pernas. Antes de se iniciar o jejum as aves selecionadas foram pesadas individualmente e após

um período de 8 horas sem alimento foram abatidas. O abate foi realizado no abatedouro do *Campus* Administrativo de Pirassununga, obedecendo as seguintes etapas: pesagem das aves; morte por sangria com o corte da jugular; pesagem da ave morta após sangria; escaldamento a 65°C; retirada das penas; nova pesagem após depena; evisceração; pesagem das vísceras comestíveis, não comestíveis, gordura abdominal (incluindo a gordura da periferia da moela) e carcaça eviscerada.

As carcaças evisceradas foram pesadas como também suas partes separadas (peito, coxa e sobrecoxa, asas, pescoço, pés e dorso) e seus pesos anotados.

A determinação do conteúdo de gordura abdominal foi realizada com base na descrição de Cabel et al. (1987) onde está incluída toda a gordura abdominal e também a da periferia da moela. Sendo que o rendimento de carcaça, vísceras e partes foram realizados adaptando-se a metodologia utilizada por Souza et al. (1994).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o pacote estatístico *SAS*<sup>®</sup> (SAS Institute, 2000), com o intuito de estudar o comportamento dos tratamentos nas diversas ocasiões. As pressuposições do modelo de análises de variância foram testadas através do SAS/LAB. Convencionou-se o nível de significância de 5% para a interpretação estatística de todos os testes estatísticos.

Para as variáveis estudadas do desempenho dos frangos (ganho médio diário, ganho médio de peso vivo, consumo de ração, conversão alimentar e mortalidade) e da imunidade (testes ELISA e HI) utilizou-se o procedimento PROC MIXED.

Para as variáveis estudadas do rendimento de carcaça e suas partes (coxa e sobrecoxa, peito, asa, pescoço, pé, dorso, gordura abdominal e pena) utilizou-se o procedimento PROC GLM.

Quando a interação entre os níveis de Zn e da Vit E foi significativa ( $p < 0,05$ ), procedeu-se ao seu desdobramento com o objetivo de estudar o comportamento das respostas em função dos níveis de Vit E em cada nível de Zn e vice-versa. Neste estudo foi utilizada a análise de regressão polinomial e quando necessário, foram determinadas as equações de regressão polinomial (linear ou quadrática).

## **4 RESULTADOS**

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos no presente experimento.

### **4.1 IMUNIDADE**

A seguir serão apresentados os resultados referentes aos testes sorológicos empregados neste experimento.

#### **4.1.1 Teste ELISA**

A análise de variância indicou o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) dos dois fatores (Zn e Vit E) e da interação entre eles nos títulos de anticorpos obtidos, em todas as colheitas de sangue referentes às diferentes idades das aves.

As GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA dos soros das aves experimentais nos períodos pré e pós-vacinal nos diferentes tratamentos utilizados encontram-se apresentadas na tabela 4.

Tabela 4 - GMT de anticorpos contra o vírus da DNC, obtidas no teste ELISA, aos 14, 28, 35 e 41 dias de idade das aves em todos tratamentos utilizados

Vit E (mg/kg)	Zn (mg/kg)	GMT dos títulos de ELISA			
		Idade das aves (dias)			
		14	28	35	41
0	0	196,75	1627,50	2205,25	2075,25
	40	215,25	1902,75	2398,50	2122,00
	400	279,75	2284,00	3120,50	2822,50
12	0	223,00	2172,00	3108,75	2789,00
	40	234,25	2217,00	3189,75	2804,75
	400	295,75	2301,25	3383,75	2890,25
120	0	298,00	2351,25	3449,75	3037,50
	40	311,00	2692,75	4220,25	3401,50
	400	316,00	2785,00	4320,00	3792,00
EPM		6,86	41,70	33,56	39,10
CV (%)		5,21	3,69	2,06	2,74

EPM = erro padrão da média, CV = coeficiente de variação.

No 14º dia de idade das aves ocorreu um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos em função dos níveis crescentes de Zn, nos níveis 0 e 12mg/kg de Vit E, de acordo com as equações:  $GMT = 0,196x + 201,92$  ( $R^2 = 0,85$ ) e  $GMT = 0,1775x + 224,97$  ( $R^2 = 0,90$ ), respectivamente, onde x representa os níveis do Zn. O Zn não alterou significativamente ( $p > 0,05$ ) os títulos médios de anticorpos no nível de 120mg/kg de Vit E (Figura 1).

Também ocorreu um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos em função dos níveis crescentes de Vit E em todos os níveis de Zn (0, 40 e 400mg/kg), de acordo com as equações:  $GMT = 0,7847x + 204,72$  ( $R^2 = 0,94$ );  $GMT = 0,7621x + 220,05$  ( $R^2 = 0,85$ ) e  $GMT = 0,2568x + 285,87$  ( $R^2 = 0,63$ ), onde x representa os níveis de Vit E (Figura 2).

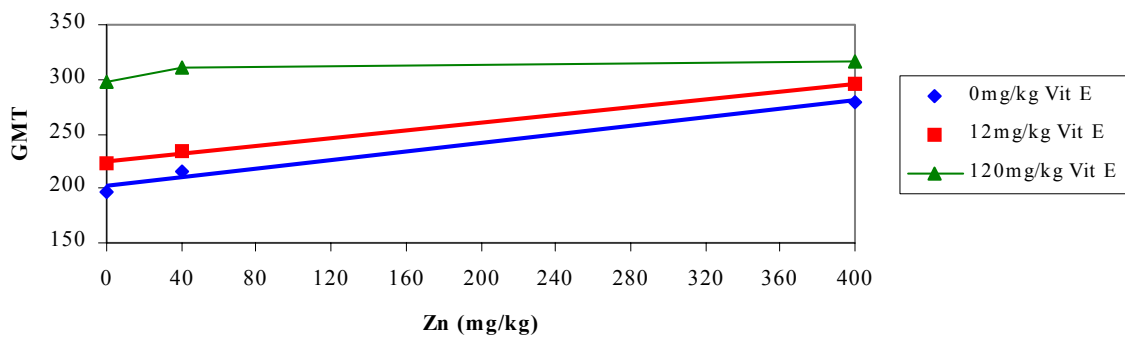


Figura 1 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 14 dias de idade das aves

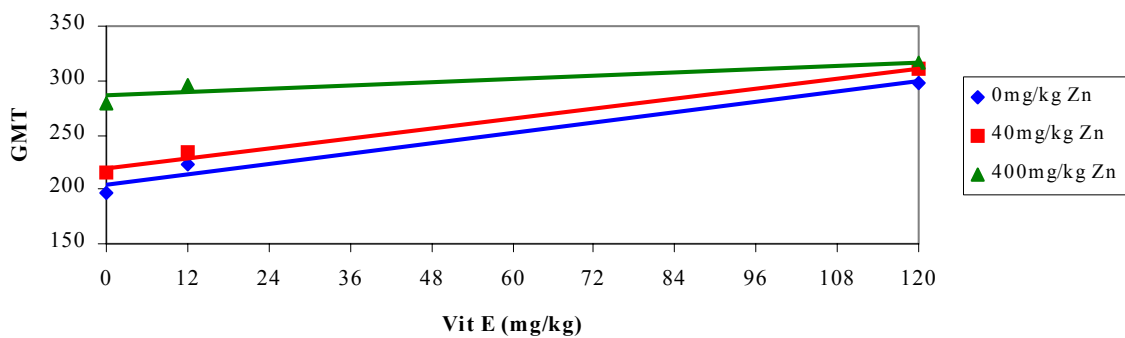


Figura 2 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 14 dias de idade das aves

Aos 28 dias de idade das aves, os títulos médios de anticorpos apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em função dos níveis crescentes de Zn, para cada nível de Vit E. Para os níveis 0 e 120 mg/kg de Vit E o comportamento dos títulos médios de anticorpos foi bem representado pelas parábolas:  $GMT = -0,0146x^2 + 7,4635x + 1627,5$  ( $R^2 = 0,93$ ) e  $GMT = -0,0207x^2 + 9,3656x + 2351,2$  ( $R^2 = 0,88$ ), respectivamente, onde x representa os níveis do Zn. O aumento dos títulos médios de anticorpos foi linear para o nível 12mg/kg de Vit E, representado pela reta:  $GMT = 0,2879x + 2187,9$  ( $R^2 = 0,31$ ) (Figura 3).



Para os níveis 0 e 40mg/kg de zinco houve uma tendência quadrática significativa ( $p < 0,05$ ) de aumento na resposta dos títulos médios de anticorpos com o aumento dos níveis de Vit E, expressa pelas equações:  $GMT = -0,3643x^2 + 49,747x + 1627,5$  ( $R^2 = 0,97$ ) e  $GMT = -0,1815x^2 + 28,366x + 1902,7$  ( $R^2 = 0,95$ ), respectivamente, onde x representa os níveis de Vit E. No nível mais elevado de Zn (400mg/kg), houve um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos, representado pela equação:  $GMT = 4,2953x + 2267,8$  ( $R^2 = 0,87$ ) (Figura 4).

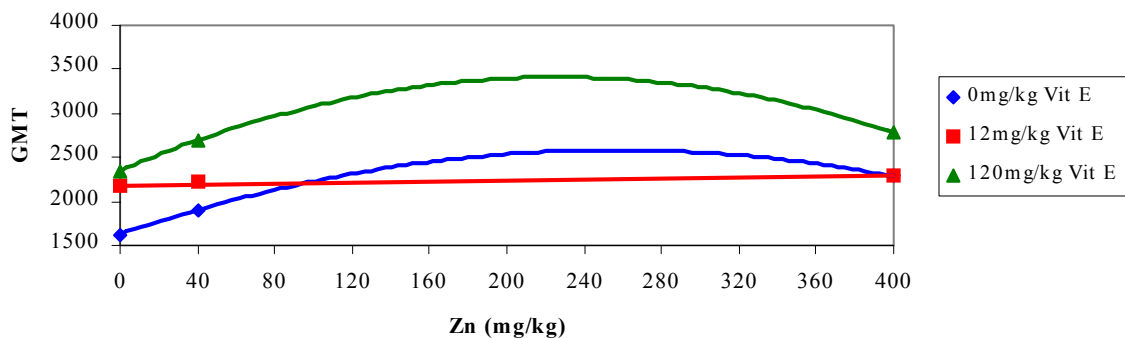


Figura 3 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 28 dias de idade das aves

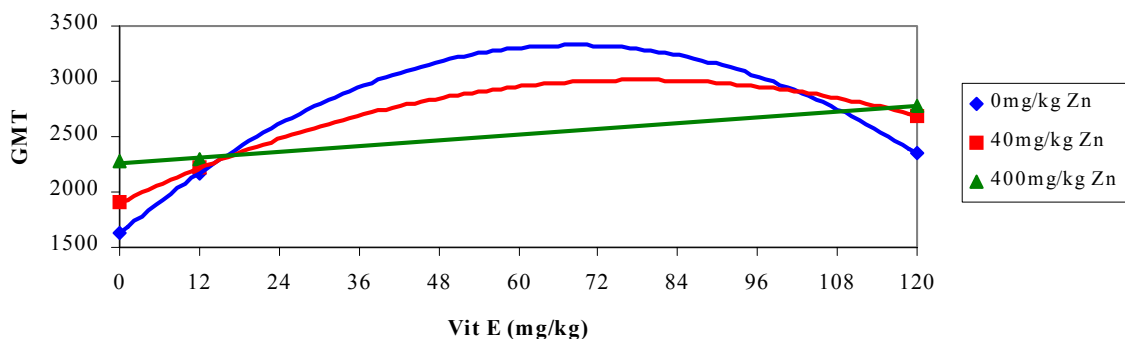


Figura 4 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 28 dias de idade das aves

No 35º dia de idade das aves, os títulos médios de anticorpos apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em função dos níveis crescentes de Zn para cada nível de Vit E. Para os níveis 0 e 120mg/kg de Vit E o comportamento dos títulos médios de anticorpos foi bem representado pelas parábolas:  $GMT = -0,0071x^2 + 5,1138x + 2205,3$  ( $R^2 = 0,98$ ) e  $GMT = -0,0475x^2 + 21,161x + 3449,7$  ( $R^2 = 0,98$ ), respectivamente, onde x representa os níveis do Zn. O aumento dos títulos médios de anticorpos foi linear para o nível 12mg/kg de Vit E, representado pela reta:  $GMT = 0,6287x + 3135,2$  ( $R^2 = 0,73$ ) (Figura 5).

Para os níveis 0, 40 e 400mg/kg de Zn houve uma tendência quadrática significativa ( $p < 0,05$ ) de aumento na resposta dos títulos médios de anticorpos com o aumento dos níveis de Vit E, expressa pelas equações:  $GMT = -0,6011x^2 + 82,505x + 2205,2$  ( $R^2 = 0,99$ ),  $GMT = -0,47x^2 + 71,577x + 2398,5$ ; ( $R^2 = 0,99$ ) e  $GMT = -0,1106x^2 + 23,264x + 3120,5$  ( $R^2 = 0,98$ ), respectivamente, onde x representa os níveis de Vit E (Figura 6).

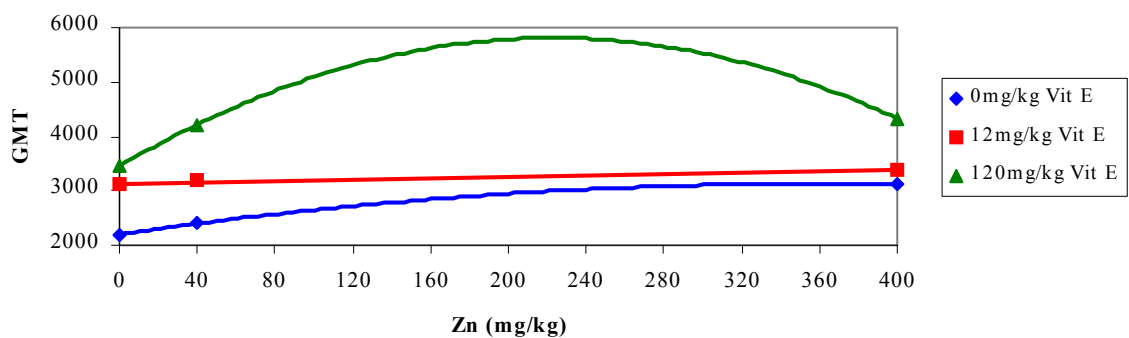


Figura 5 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 35 dias de idade das aves

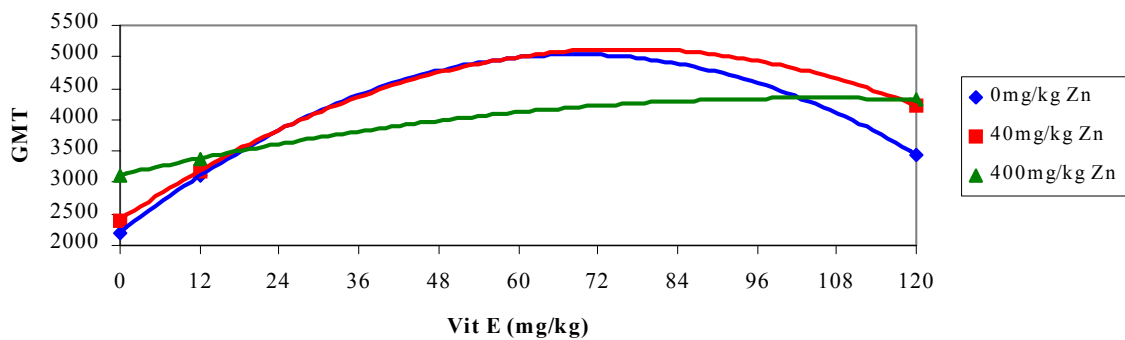


Figura 6 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 35 dias de idade das aves

Aos 41 dias de idade das aves ocorreu um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos em função dos níveis crescentes de Zn, nos níveis 0 e 12mg/kg de Vit E, de acordo com as equações:  $GMT = 1,8989x + 2061,4$  ( $R^2 = 0,98$ ) e  $GMT = 0,2469x + 2791,8$  ( $R^2 = 0,33$ ), respectivamente, onde x representa os níveis do Zn. O aumento dos títulos médios de anticorpos foi quadrático para o nível 120mg/kg de Vit E, representado pela equação:  $GMT = -0,02x^2 + 9,9015x + 3037,5$  ( $R^2 = 0,92$ ) (Figura 7).

Para os níveis 0 e 40mg/kg de Zn houve uma tendência quadrática significativa ( $p < 0,05$ ) de aumento na resposta dos títulos médios de anticorpos com o aumento dos níveis de Vit E, representado pelas equações  $GMT = -0,4765x^2 + 65,197x + 2075,2$  ( $R^2 = 0,98$ ) e  $GMT = -0,4281x^2 + 62,033x + 2122$  ( $R^2 = 0,98$ ), respectivamente, onde x representa os níveis de Vit E. No nível mais elevado de Zn (400mg/kg), houve um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos, expresso pela equação:  $GMT = 8,1861x + 2808,1$  ( $R^2 = 0,97$ ) (Figura 8).

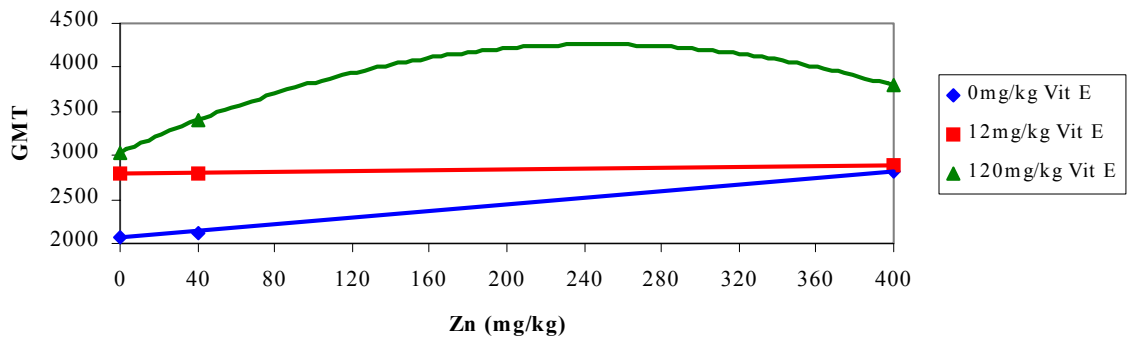


Figura 7 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 41 dias de idade das aves

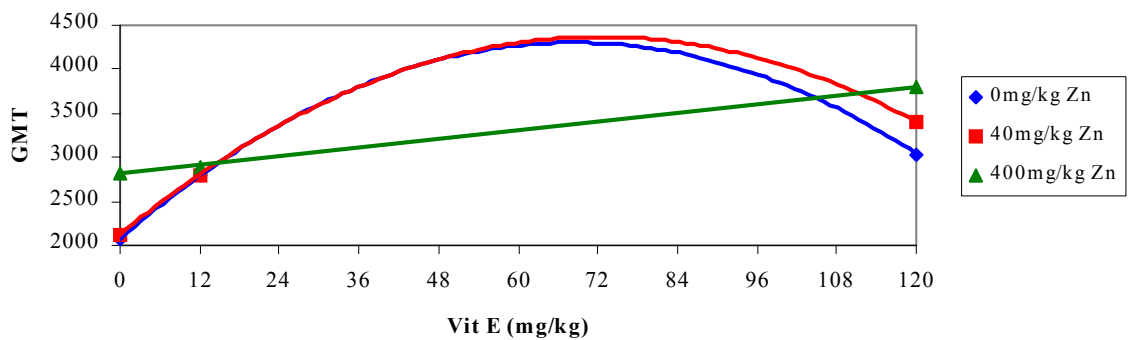


Figura 8 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste ELISA referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 41 dias de idade das aves

#### 4.1.2 Teste HI

As GMT dos anticorpos inibidores da hemaglutinação dos soros das aves experimentais no período pré e pós-vacinal nos diferentes tratamentos utilizados estão apresentados na tabela 5.

A análise de variância indicou o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) dos dois fatores (Zn e Vit E) e da interação entre eles nos títulos médios de anticorpos obtidos, em todas as colheitas de sangue referentes às diferentes idades dos frangos.

Aos 14, 28 e 35 dias de idade das aves, a interação entre os níveis utilizados do Zn e da Vit E não alteraram significativamente ( $p > 0,05$ ) os títulos médios de anticorpos.

No 14º dia de idade dos frangos, ocorreu um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos em função dos níveis isolados da Vit E (0, 12, 120mg/kg), representado pela reta:  $GMT = 0,0041x + 2,5595$  ( $R^2 = 0,35$ ). Os níveis isolados do Zn (0, 40, 400mg/kg) não alteraram significativamente ( $p > 0,05$ ) os títulos médios de anticorpos.

Aos 28 dias de idade das aves, os títulos médios de anticorpos apresentaram um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) para os níveis isolados de Vit E (0, 12, 120mg/kg) e um aumento quadrático significativo ( $p < 0,05$ ) para os níveis isolados de Zn (0, 40, 400mg/kg), representados, respectivamente, pelas seguintes equações:  $GMT = 0,1639x + 45,672$  ( $R^2 = 0,57$ ) e  $GMT = -0,0003x^2 + 0,1571x + 47,217$  ( $R^2 = 0,15$ ).

No 35º dia de idade dos frangos, houve uma tendência quadrática significativa ( $p < 0,05$ ) de aumento na resposta dos títulos médios de anticorpos com o aumento dos níveis isolados da Vit E (0, 12, 120mg/kg) e dos níveis isolados do Zn (0, 40, 400mg/kg), representados, respectivamente, pelas seguintes equações:  $GMT = -0,0062x^2 + 1,114x + 75,487$  ( $R^2 = 0,74$ ) e  $GMT = -0,0005x^2 + 0,2567x + 84,212$  ( $R^2 = 0,16$ ).

As médias dos títulos de anticorpos obtidas através de análise de regressão dos níveis isolados de Zn e da Vit E referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos, encontram-se na tabela 6 e figuras 9 e 10.

Tabela 5 - GMT de anticorpos contra o vírus da DNC, obtidas no teste HI, aos 14, 28, 35 e 41 dias de idade das aves em todos tratamentos utilizados

Vit E (mg/kg)	Zn (mg/kg)	GMT dos títulos de HI Idade das aves (dias)			
		14	28	35	41
0	0	2,29	39,53	65,38	55,91
	40	2,46	41,66	68,85	60,78
	400	2,73	49,50	92,24	81,87
12	0	2,59	44,41	77,56	64,23
	40	2,63	49,77	90,61	80,40
	400	2,83	55,78	95,73	85,96
120	0	2,94	57,71	109,69	92,24
	40	3,04	67,53	121,57	100,61
	400	3,16	70,08	130,45	109,56
EPM		0,15	3,27	3,49	2,62
CV (%)		11,27	12,39	7,39	6,45

EPM = erro padrão da média, CV = coeficiente de variação.

Tabela 6 - GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidas através de análise de regressão dos níveis isolados do Zn e da Vit E referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos

Vit E (mg/kg)	GMT dos títulos de HI Idade das aves (dias)		
	14	28	35
0	2,49 (L)	43,56 (L)	75,49 (Q)
12	2,68 (L)	49,98 (L)	87,97 (Q)
120	3,05 (L)	65,10 (L)	120,58 (Q)
Zinco (mg/kg)			
0	2,61 (NS)	47,21 (Q)	84,21 (Q)
40	2,71 (NS)	52,98 (Q)	93,67 (Q)
400	2,91 (NS)	58,45 (Q)	106,14 (Q)
Média	2,74	52,88	94,67
EPM	0,051	1,092	1,166

EPM = erro padrão da média, CV = coeficiente de variação, (L) = modelo linear, (Q) = modelo quadrático, NS = não significativo.

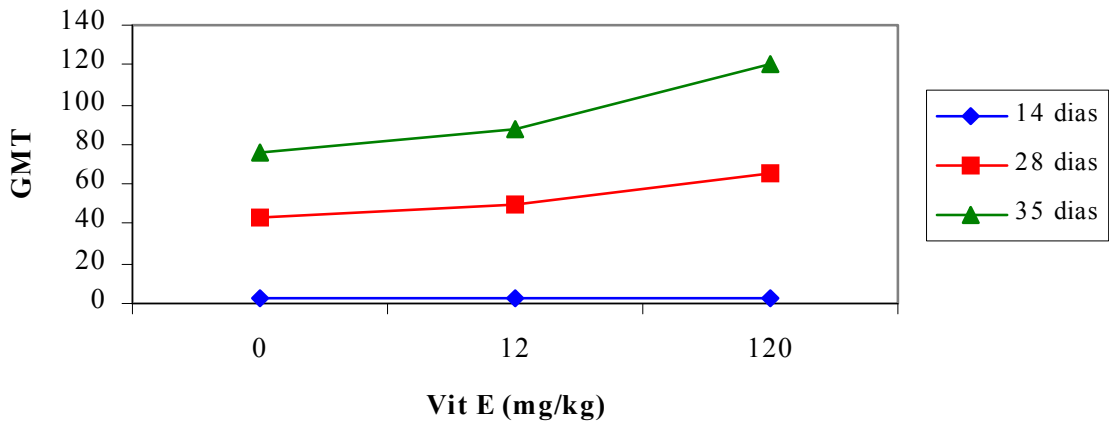


Figura 9 - Valores das GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidos através de análise de regressão dos níveis isolados de Vit E referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos

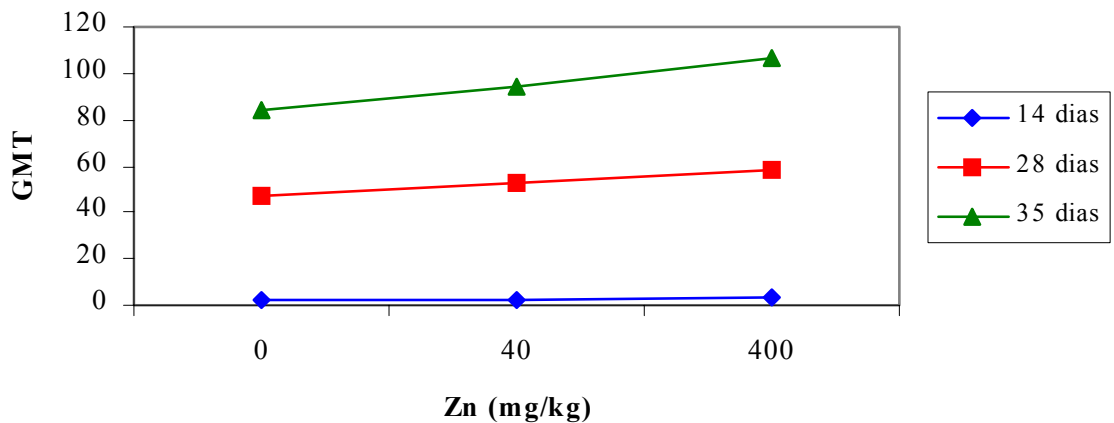


Figura 10 - Valores das GMT de anticorpos inibidores da hemaglutinação, obtidos através de análise de regressão dos níveis isolados do Zn referentes ao 14º, 28º e 35º dia de idade dos frangos

Aos 41 dias de idade dos frangos, para os níveis 0 e 120mg/kg de Vit E houve uma tendência linear significativa ( $p < 0,05$ ) de aumento na resposta dos títulos médios de anticorpos com o aumento dos níveis de Zn, expressa pelas equações:  $GMT = 0,0624x + 57,035$  ( $R^2 = 0,92$ ) e  $GMT = 0,036x + 95,518$  ( $R^2 = 0,55$ ), respectivamente, onde x representa os níveis de Zn. Para o nível 12mg/kg de Vit E o comportamento dos títulos médios de

anticorpos foi bem representado pela parábola:  $GMT = -0,001x^2 + 0,443x + 64,233$  ( $R^2 = 0,77$ ) (Figura 11).

Os títulos médios de anticorpos apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em função dos níveis crescentes de Vit E, para cada nível de Zn. Para os níveis 0 e 400mg/kg de Zn houve um aumento linear significativo ( $p < 0,05$ ) na resposta dos títulos médios de anticorpos dados pelas equações:  $GMT = 0,2855x + 58,228$  ( $R^2 = 0,89$ ) e  $GMT = 0,226x + 82,518$  ( $R^2 = 0,95$ ), respectivamente, onde x representa os níveis de Vit E. Ocorreu um aumento quadrático significativo ( $p < 0,05$ ) nos títulos médios de anticorpos para o nível 40mg/kg de Zn, de acordo com a equação:  $GMT = -0,0121x^2 + 1,7793x + 60,782$  ( $R^2 = 0,91$ ) (Figura 12).

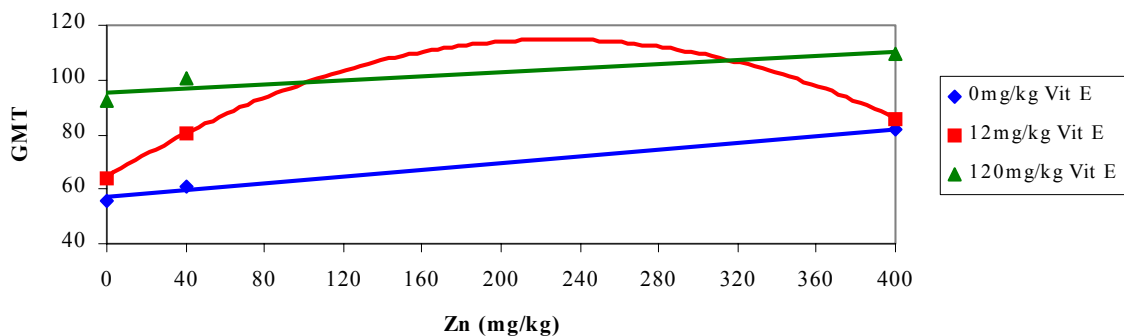


Figura 11 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste HI, referentes ao comportamento dos diferentes níveis do Zn em cada nível de Vit E, aos 41 dias de idade das aves



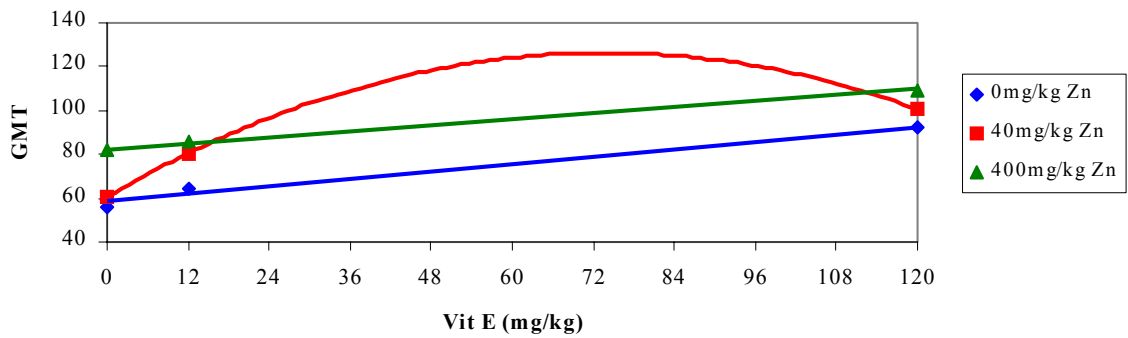


Figura 12 - Curvas de tendência das GMT de anticorpos obtidas no teste HI, referentes ao comportamento dos diferentes níveis da Vit E em cada nível de Zn, aos 41 dias de idade das aves

## 4.2 DESEMPENHO ANIMAL

A seguir serão apresentados os resultados das características avaliadas referentes ao desempenho das aves obtidos neste experimento.

### 4.2.1 Ganho médio diário

As médias do GMD dos frangos nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas encontram-se na tabela 7.

Na análise estatística desta característica não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias de nenhum tratamento nas fases inicial, de crescimento e final. No período total de criação (de 1 a 42 dias de idade das aves) os níveis de Zn tiveram um efeito

significativo ( $p < 0,05$ ) sobre o GMD das aves, que pode ser explicado pela parábola:  $GMD = -0,000114x^2 + 0,05034x + 59,9342$  ( $R^2 = 0,28$ ) (Tabela 8).

Tabela 7 - GMD (g/ave) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Fase inicial	Fase de crescimento	Fase final	Período total de criação
0/0	38,53	77,69	86,11	59,52
0/40	41,05	79,33	87,42	61,54
0/400	41,47	78,80	82,79	60,80
12/0	38,83	75,79	85,97	59,00
12/40	40,62	82,23	86,16	62,08
12/400	41,13	81,57	91,23	62,96
120/0	39,90	80,12	87,76	61,29
120/40	41,27	79,10	88,06	61,68
120/400	42,07	80,82	83,38	61,87
Média	40,54	79,49	86,54	61,19
EPM	0,37	1,44	2,63	0,69

EPM = erro padrão da média.

Tabela 8 - Valores das médias dos níveis de Zn utilizados, obtidos através dos contrastes para o GMD (g/ave) e o GMPV (g/ave) dos frangos

Zn (mg/kg)	GMD Período total	GMPV Fase inicial	GMPV Fase de crescimento	GMPV Fase final	GMPV Período total
0	59,93	820,79	1090,15	606,30	2517,24
40	61,77	860,59	1123,19	610,48	2594,20
400	61,88	872,71	1125,54	600,60	2598,85
EPM	0,40	4,51	11,65	10,61	16,77
Polinômio	Q	Q	Q	NS	Q

GMD = ganho médio diário, GMPV = ganho médio de peso vivo, EPM = erro padrão da média, Q = quadrático, NS = não significativo.

#### 4.2.2 Ganho médio de peso vivo

As médias obtidas para o GMPV dos frangos nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas, encontram-se na tabela 9.

Tabela 9 - GMPV (g/ave) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Fase inicial (g)	Fase de crescimento (g)	Fase final (g)	Período total de criação (g)
0/0	809,11	1087,70	602,77	2499,58
0/40	862,05	1110,63	611,93	2584,61
0/400	870,97	1103,19	579,51	2553,67
12/0	815,33	1061,01	601,78	2478,12
12/40	853,09	1151,31	603,09	2607,48
12/400	863,71	1142,01	638,63	2644,35
120/0	837,92	1121,75	614,34	2574,01
120/40	866,62	1107,45	616,43	2590,50
120/400	883,44	1131,41	583,67	2598,53
Média	851,36	1112,94	605,79	2570,09
EPM	7,82	20,18	18,38	29,04

EPM = erro padrão da média.

Na análise estatística desta característica, foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias do ganho de peso vivo dos níveis de Zn (0, 40, 400mg/kg) utilizados em todas as fases e no período total de criação dos frangos.

Nas fases inicial e de crescimento e no período total de criação dos frangos, o aumento das médias do ganho de peso vivo apresentou um modelo quadrático significativo ( $p < 0,05$ ), que podem ser representados, respectivamente, pelas seguintes equações:  $GMPV = 0,0003x^2 - 0,0967x + 847,37$  ( $R^2 = 0,087$ ),  $GMPV = -0,0011x^2 + 0,4834x + 1100,5$  ( $R^2 = 0,041$ ) e  $GMPV = -0,0018x^2 + 0,8411x + 2545,9$  ( $R^2 = 0,063$ ).

Na fase final de criação das aves, não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias do ganho de peso vivo, tais resultados podem ser vistos na tabela 8.

#### 4.2.3 Consumo médio de ração

Os valores do CMR pelos frangos de corte nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas, encontram-se na tabela 10.

Na análise estatística desta característica, foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores do consumo médio de ração dos níveis de Zn (0, 40, 400mg/kg) utilizados em todas as fases e no período total de criação dos frangos.

Nas fases inicial e de crescimento e no período total de criação dos frangos, os valores do consumo médio de ração, apresentaram um modelo quadrático significativo ( $p < 0,05$ ), representados, respectivamente, pelas seguintes equações:  $CRM = -0,0011x^2 + 0,5645x + 1142,7$  ( $R^2 = 0,23$ ),  $CRM = 0,0003x^2 - 0,1756x + 1976,2$  ( $R^2 = 0,16$ ) e  $CRM = -0,0025x^2 + 1,0559x + 4483,4$  ( $R^2 = 0,026$ ). Na fase final de criação das aves, não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre o CMR, conforme demonstrado na tabela 11.

Tabela 10 - CRM (g) dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Fase inicial	Fase de crescimento	Fase final	Período total de criação
0/0	1114,22	1943,92	1382,89	4441,02
0/40	1170,32	1997,19	1368,83	4536,33
0/400	1143,61	1987,39	1341,71	4472,70
12/0	1127,90	1909,30	1386,51	4423,71
12/40	1182,80	2002,06	1366,58	4551,44
12/400	1179,70	1997,73	1412,43	4589,86
120/0	1155,81	1926,92	1350,57	4433,30
120/40	1197,80	1975,40	1380,78	4553,99
120/400	1204,10	1982,15	1367,45	4553,70
Média	1164,03	1969,12	1373,08	4506,23
EPM	13,86	20,61	25,01	47,55

EPM = erro padrão da média.

Tabela 11 - Valores das médias dos níveis de Zn utilizados, obtidos através dos contrastes para o CMR (g) dos frangos

Zn (mg/kg)	Fase inicial	Fase de crescimento	Fase final	Período total de criação
0	1132,64	1926,71	1373,32	4432,68
40	1183,64	1991,55	1372,06	4547,25
400	1175,80	1989,09	1373,86	4538,75
EPM	8,00	11,09	14,44	27,46
Polinômio	Q	Q	NS	Q

EPM = erro padrão da média, Q = quadrático, NS = não significativo.

#### 4.2.4 Conversão alimentar

Os valores médios da CA dos frangos de corte nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que os frangos foram submetidos, encontram-se na tabela 12.

Na análise estatística desta característica não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os valores da CA em nenhum tratamento nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação das aves. A CA dos frangos durante o período de 1 a 42 dias resultou em efeito significativo a 0,0553 da interação entre os fatores Zn e Vit E.

Tabela 12 - CA dos frangos de corte durante as fases inicial (1 a 21 dias), de crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias) e o período total de criação (1 a 42 dias), referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Fase inicial	Fase de crescimento	Fase final	Período total de criação
0/0	1,38	1,79	2,29	1,78
0/40	1,36	1,80	2,25	1,75
0/400	1,31	1,80	2,32	1,75
12/0	1,38	1,80	2,31	1,78
12/40	1,39	1,74	2,28	1,75
12/400	1,37	1,75	2,21	1,74
120/0	1,38	1,72	2,20	1,72
120/40	1,38	1,78	2,24	1,76
120/400	1,36	1,76	2,36	1,75
Média	1,37	1,77	2,27	1,75
EPM	0,017	0,027	0,063	0,014

EPM = erro padrão da média.

#### 4.2.5 Mortalidade

As porcentagens de mortalidade das aves nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que as aves foram submetidas, encontram-se na tabela 13.

Na análise estatística desta característica não foi encontrada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as taxas de mortalidade dos frangos em nenhum tratamento nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação.

Aparentemente não houve influência dos níveis do Zn e da Vit E utilizados no tocante à mortalidade, sendo seu alto índice justificado pela mortalidade das aves que ocorreu durante as colheitas de sangue.

Tabela 13 - Porcentagens de mortalidade dos frangos nos tratamentos testados nas fases inicial (1 a 21 dias de idade), de crescimento (22 a 35 dias de idade), final (36 a 42 dias de idade) e no período total de criação (1 a 42 dias de idade)

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Fase inicial (%)	Fase de crescimento (%)	Fase final (%)	Período total de criação (%)
0/0	6,25	3,33	4,15	13,13
0/40	2,50	4,44	4,07	11,25
0/400	8,75	8,24	1,52	17,50
12/0	4,38	8,38	5,87	17,50
12/40	5,00	4,61	2,72	11,88
12/400	3,75	7,04	2,78	13,13
120/0	3,13	9,10	5,74	16,88
120/40	3,13	7,65	5,63	15,63
120/400	5,00	9,87	3,66	17,50
Média	4,65	6,96	4,02	14,93
EPM	1,47	1,99	1,32	2,58

EPM = erro padrão da média

#### 4.3 RENDIMENTO DE CARÇAÇA E SUAS PARTES

Os dados referentes ao abate das aves estão apresentados nas tabelas 14 e 15.

A análise de variância não indicou diferenças significativas ( $p>0,05$ ) dos dois fatores (Zn e Vit E) e das interações entre eles no rendimento de carcaça, coxa e sobrecoxa, peito, asa, pescoço, pé, dorso, pena e presença de gordura abdominal.

Os níveis de Vit E (0, 12, 120mg/kg) utilizados tiveram um efeito linear significativo ( $p<0,05$ ) sobre o parâmetro porcentagem de sangue (PS) dos frangos, que pode ser explicado pela equação:  $PS = -0,0036x + 3,0409$  ( $R^2 = 0,028$ ). Entretanto, não foi encontrada uma justificativa plausível para este fato.

Tabela 14 - Carcaça eviscerada (%), pena (%), sangue (%), gordura abdominal (%) e vísceras comestíveis (%) aos 42 dias de idade dos frangos submetidos a diferentes tratamentos

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Carcaça eviscerada <sup>1</sup>	Pena <sup>1</sup>	Sangue <sup>2</sup>	Gordura abdominal <sup>2</sup>	Vísceras comestíveis <sup>2</sup>
0/0	77,91	9,59	3,27	1,82	5,71
0/40	78,19	8,05	2,78	2,08	6,04
0/400	77,62	9,25	3,40	1,78	5,95
12/0	78,18	8,83	2,64	1,90	6,22
12/40	77,82	8,86	3,01	1,80	5,89
12/400	78,53	8,59	3,00	1,68	5,54
120/0	77,51	9,02	2,07	1,57	5,80
120/40	78,67	8,21	2,65	1,56	5,76
120/400	78,16	7,92	2,72	1,93	6,07
EPM	0,58	0,67	0,29	0,18	0,24
CV (%)	1,49	15,44	20,26	19,89	8,15

EPM = erro padrão da média, CV = coeficiente de variação.

<sup>1</sup>Dados em % do peso vivo, <sup>2</sup>Dados em % da carcaça eviscerada quente.



Tabela 15 - Rendimento de coxa e sobrecoxa (%), asa (%), peito (%), pescoço (%), pé (%) e dorso (%) aos 42 dias de idade dos frangos submetidos a diferentes tratamentos

Tratamento Vit E/Zn (mg/kg)	Coxa e sobrecoxa <sup>1</sup>	Asa <sup>1</sup>	Peito <sup>1</sup>	Pescoço <sup>1</sup>	Pé <sup>1</sup>	Dorso <sup>1</sup>
0/0	27,05	10,28	31,51	7,83	4,40	19,01
0/40	26,42	10,06	33,09	7,47	4,15	18,75
0/400	27,36	10,52	31,10	7,78	4,57	18,68
12/0	27,34	10,36	31,76	7,76	4,31	18,51
12/40	26,96	10,29	32,18	7,77	4,39	18,42
12/400	26,92	10,53	31,29	7,77	4,37	19,15
120/0	26,84	10,09	32,69	7,64	4,40	18,61
120/40	26,93	10,46	32,29	7,61	4,28	18,93
120/400	26,77	10,00	32,41	7,54	4,34	18,94
EPM	0,25	0,17	0,42	0,17	0,08	0,35
CV (%)	1,83	3,36	2,62	4,40	3,58	3,74

EPM = erro padrão da média, CV = coeficiente de variação.

<sup>1</sup>Dados em % da carcaça eviscerada resfriada.

## 5 DISCUSSÃO

O papel da imunidade tem sido destacado amplamente, enfatizando-se a possível influência da idade vacinal na resposta imunitária das aves.

A resposta sorológica obtida neste experimento se explica pelo fato que os anticorpos inibidores da hemaglutinação, representam, unicamente, uma das respostas imunológica humoral estipuladas pelo vírus da DNC. Os maiores níveis de Zn e Vit E utilizados indicaram melhor resposta vacinal. Conforme Paulillo et al. (1987), títulos máximos de anticorpos inibidores da hemaglutinação, foram obtidos aos 21 dias após a vacinação. Com o teste ELISA também se observou os maiores títulos de anticorpos nos soros das aves com 35 dias de idade.

Os títulos médios de anticorpos dos testes HI e ELISA obtidos no 14º dia de idade dos pintos, deve-se provavelmente, ao gradual desaparecimento de sua imunidade materna. Estes títulos de anticorpos diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ), entretanto não são considerados títulos de proteção. O que se pode supor é que maiores níveis de Zn e Vit E, retardaram o declínio dos títulos de anticorpos maternos.

Mediante o emprego do teste HI, observou-se uma melhora na resposta imunológica humoral das aves com 28, 35 e 41 dias. Aos 41 dias de idade dos frangos houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) do Zn e da Vit E e das interações entre eles nos títulos de anticorpos obtidos. No 28º e 35º dias de idade das aves, houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) nos níveis isolados do Zn e da Vit E, assim, o aumento dos níveis isolados destes fatores resultou no aumento do título de anticorpos. É importante salientar que o teste HI detecta apenas anticorpos hemaglutinantes contra o vírus da DNC e também não possui capacidade de detectar anticorpos precocemente.

Através do teste ELISA, observou-se também um aumento nos títulos médios de anticorpos nos soros das aves com 28, 35 e 41 dias, indicando efeito significativo ( $p < 0,05$ ) do Zn e da Vit E e das interações entre eles nos títulos de anticorpos obtidos. Houve uma melhora na resposta imunológica humoral à medida que se elevou os níveis do Zn e da Vit E e as interações dos mesmos. Estudando-se o comportamento das respostas em função dos níveis de Vit E em cada nível do Zn e vice-versa, os modelos testados (linear ou quadrático) foram significativos ( $p < 0,05$ ), exceto quando se estudou o comportamento do Zn com o nível de 120mg/kg de Vit E.

Tengerdy e Nockels (1973) observaram aumento na resposta imunológica humoral em aves que receberam suplementação de 132mg/kg de Vit E na dieta quando comparadas com o grupo controle.

Pintos de corte recebendo dieta deficiente em Vit E e selênio apresentaram baixos títulos de anticorpos (MARSH et al., 1981). Ambos, Vit E e selênio, suplementados, foram necessários para se obter os maiores títulos. Em frangos de corte que receberam dieta suplementada com 0,06mg/kg de selênio e 150UI/kg de Vit E, Swain et al. (2000) detectaram títulos de anticorpos significantes (HI e ELISA) aos 10 dias após imunização contra o vírus da DNC.

Quando a Vit E foi administrada durante o desenvolvimento embrionário por injeção *in ovo*, aves nascidas no grupo inoculado com Vit E apresentaram uma resposta imunológica melhor, e quando desafiadas com hemácias de ovinos tiveram níveis de anticorpos mais elevados (GORE; QURESHI, 1997). Entretanto, em estudos de Friedman et al. (1998), pintinhos foram suplementados com 0 a 150mg de Vit E por kg de dieta e depois, desafiados com vários antígenos. Houve uma redução linear definitiva na resposta dos anticorpos, à medida que níveis de Vit E foram aumentados.

Segundo Leshchinsky e Klasing (2001), os efeitos da Vit E na produção de anticorpos dependem da natureza do anticorpo. Estes autores suplementaram diferentes níveis de Vit E na ração de frangos de corte (0, 10, 25, 50, 100 e 200UI/kg de dieta) e avaliaram a resposta imunológica humoral de anticorpos contra hemácias de carneiro, vírus da bronquite infecciosa e *Brucella abortus*. Os títulos de anticorpos contra o vírus da bronquite infecciosa e contra hemácias de carneiro foram mais altos, respectivamente, nas aves alimentadas com ração suplementadas com 25 e 50UI/kg de Vit E. A produção de anticorpos contra *Brucella abortus* não foi influenciada pela Vit E.

Um relato de Burns (1983) indicou que a produção de anticorpos foi diminuída quando aves foram alimentadas com dieta deficiente em Zn.

Pimentel et al. (1991) mensuraram a resposta imunológica em pintos (Hubbard) que receberam dietas contendo óxido de Zn e Zn-metionina. Deram dietas contendo 8, 18, 28, 38, 48 e 58mg/kg de óxido de Zn, e 28, 38, 48, 58, 68, 78 e 88mg/kg de Zn-metionina. A resposta imunológica não foi afetada pela fonte de Zn nem pelos níveis de Zn quando se avaliou a resposta de anticorpos contra hemácias de carneiro. Estes resultados coincidem com os de Kidd et al. (1992), que suplementaram a ração básica (72mg Zn/kg) complementada com 80mg Zn/kg (óxido de Zn ou Zn-metionina). Estes pesquisadores mediram a resposta imunológica em pintos de corte recebendo dietas contendo diferentes níveis de óxido de Zn e Zn-metionina. A resposta imunológica não foi afetada pela fonte ou nível de Zn quando avaliada em termos de resposta de produção de anticorpos contra hemácias de carneiro, mas o grupo que recebeu Zn-metionina apresentou maior resposta imunológica humoral contra *Salmonella Pullorum*.

Kidd et al. (1993) observaram que os pintinhos produzidos pelas matrizes que foram alimentadas com maiores níveis de Zn complexado, apresentaram melhor resposta imunológica e, portanto, estavam mais bem preparados para enfrentar os desafios a campo.

Jorge Neto e Dari (2000) relataram que o ganho de peso, consumo de ração e CA obtidos com o uso de zinco suplementado na ração das aves não são constantes.

No presente experimento, a análise estatística mostra que os tratamentos utilizados nas dietas dos frangos não exerceram efeito ( $p>0,05$ ) na CA, entretanto as aves que receberam dietas com maiores níveis de Zn e Vit E obtiveram melhor CA.

O consumo de ração pelos frangos diferiu significativamente devido ao nível de suplementação de Zn na ração, observando-se uma tendência de diminuição da ingestão alimentar do nível 40 para 400mg/kg de Zn na dieta nas fases inicial e de crescimento e no período total de criação dos frangos.

O GMD dos frangos nas fases inicial, de crescimento e final, conforme o aumento dos níveis do Zn e da Vit E na ração, não foi estatisticamente significativo ( $p>0,05$ ). No período total de criação das aves, os níveis de Zn influenciaram o peso dos frangos, houve uma melhora no ganho de peso diário conforme se elevou os níveis do Zn.

O GMPV dos frangos foi influenciado pelos níveis de Zn utilizados em todas as fases e no período total de criação dos frangos, e desta maneira pode-se verificar que o Zn foi mais eficiente em promover o crescimento das aves.

Estudo de Colnago et al. (1984) em que aves foram alimentadas com 100UI de Vit E/kg na dieta, foi detectado um aumento no ganho de peso e redução na mortalidade das aves desafiadas com coccidiose.

Ayed et al. (1989) observaram o desempenho de frangos de corte que receberam diferentes níveis de Vit E (0; 10; 37,5; 50 e 100ppm) suplementados na ração. Ao final da quarta semana, o ganho de peso e a eficiência alimentar dos frangos que foram alimentados com as rações suplementadas com Vit E diminuiu significativamente quando comparados com o grupo controle.

Maurice et al. (1993) observaram diminuição no ganho de peso em frangos de corte que receberam 300UI/kg de Vit E em sua dieta.

Frigg et al. (1992) e Sell et al. (1994), utilizando níveis máximos de 300 e 500mg de Vit E/kg de dieta, respectivamente, não encontraram efeitos dos tratamentos sobre o desempenho de frangos de corte e perus. A mortalidade das aves desafiadas com *E coli* não foi influenciada pelos níveis de Vit E na ração (SELL et al., 1994).

Jakobsen et al. (1995) estudaram o efeito de dois níveis de Vit E (100 e 500mg/kg de dieta) e de dois tipos de Vit E (sintética e natural), e não verificaram aumento no consumo e melhoria no ganho de peso das aves em função do nível e do tipo de Vit E utilizados na dieta.

Avaliando o desempenho de frangos de corte até o 49º dia de idade, alimentados com dieta abaixo da exigência proposta pelo NRC (1994), ou nível normal de Vit E (20mg/kg), ou ainda nível de Vit E considerado excessivo (300mg/kg de dieta), Raza et al. (1997) verificaram melhor CA e maior peso corporal para as aves que foram alimentadas com 300mg/kg de dieta, sendo essas 12,2% mais pesadas que as aves que receberam 20mg de Vit E/kg de dieta.

Barreto et al. (1999) demonstraram que o aumento da Vit E na dieta de frangos de corte resultou em melhoria significativa ( $p < 0,05$ ) no ganho de peso das aves aos 42 dias de idade. Verificou-se que as dietas com 250, 500 e 750mg de Vit E /kg proporcionaram maior ganho de peso (1 a 42 dias) e maior peso das aves aos 42 dias de idade, embora a diferença no ganho de peso das aves alimentadas com dieta com 25 ou 250mg de Vit E/kg não tenha sido significativa ( $p > 0,05$ ). Os níveis de Vit E utilizados na dieta não exerceram efeitos significativos sobre o consumo de ração e sobre a viabilidade das aves, porém, efeito significativo foi observado para a CA. As aves alimentadas com dieta com 750mg de Vit E/kg obtiveram melhor CA ( $p < 0,05$ ) quando comparadas com as aves que receberam 25mg de Vit

E/kg. A CA foi semelhante nas aves que receberam dieta com 25, 250 e 500, e semelhante nas que receberam 250, 500 e 750mg de Vit E/kg.

Pimentel e Cook (1988) verificaram que não houve efeito significativo na resposta imunológica em aves alimentadas com dieta deficiente em Zn (8mg/kg) na ração e observaram também uma diminuição no crescimento e no consumo de ração destas aves.

Kidd et al. (1992) avaliaram o desempenho de pintos de corte que receberam dietas contendo diferentes níveis de Zn e quelato de Zn com metionina e não encontraram diferença estatística na CA e no ganho de peso.

Pimentel et al. (1991) observaram que níveis de Zn (8 a 88 $\mu$ l/g) utilizados na dieta de galinha afetaram o crescimento, assim aves que receberam ração com 28, 38 e 28 $\mu$ l/g de Zn, respectivamente com 3, 5 e 7 semanas de idade, obtiveram melhor crescimento.

Alguns autores têm demonstrado efeito positivo do Zn no crescimento das aves quando este mineral é suplementado na dieta com 35mg/kg (WATKINS; SOUTHERN, 1993), 37mg/kg (STAHL et al., 1989) e 40 mg/kg (YI et al., 1996). Wedeking et al. (1992) não observaram efeito significativo no crescimento de galinhas que receberam dietas suplementadas com 95, 117 e 867mg/kg de Zn. Conseqüentemente, para o crescimento dos pintos o requerimento de 40mg/kg de Zn na ração recomendado pelo NRC (1994), é satisfatório.

Quando avaliaram o desempenho de frangos com 21 dias de idade, Mohanna e Nys (1999) observaram aumento no ganho de peso e no consumo alimentar nos frangos que receberam dieta com 45mg/kg de Zn e a suplementação de 10mg/kg de Zn na ração foi suficiente para otimizar a CA.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e sob as condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que:

1. A interação dos diferentes níveis de Zn e Vit E utilizados, resultou em uma melhor resposta imunológica humoral, quando avaliadas as GMT dos títulos de anticorpos do teste ELISA.

2. A interação entre os maiores níveis entre o Zn e Vit E na ração apresentou as maiores GMT de anticorpos mediante o uso do teste ELISA, referentes aos 28º, 35º e 41º dias de idade dos frangos.

3. O aumento dos níveis do Zn e da Vit E isolados na ração promoveu maiores GMT de anticorpos hemaglutinantes, através do teste HI, referentes ao 28º e 35º dias de idade dos frangos.

4. No 41º dia de idade das aves, a interação entre os maiores níveis de Zn e Vit E, proporcionou aumento nas GMT de anticorpos hemaglutinantes, através do teste HI.

5. O aumento nos níveis de Zn na ração causou melhora no GMD dos frangos, no período total de criação.

6. O aumento nos níveis de Zn na ração promoveu melhora no GMPV dos frangos, exceto na fase final de criação.

7. O CMR dos frangos foi menor naqueles que receberam dieta com 400mg/kg de Zn, quando comparados com os que receberam 40mg/kg de Zn, exceto na fase final de criação.

8. A CA, a mortalidade e o rendimento de carcaça dos frangos de corte não foram influenciados pelos níveis de Zn e de Vit E isolados e nem pela interação dos mesmos.



## REFERÊNCIAS

ADEREM, A. A.; WRIGHT, S. D.; SILVERSTEIN, S. C.; COHN, Z. A. Ligated complement receptors do not activate the arachidonic-acid cascade in resident peritoneal-macrophages. **Journal of Experimental Medicine**, v. 161, n. 3, p. 617-622, 1985.

AYED, L. A; DAFAALLA, R.; ADAM, S. Effects of various levels of dietary vitamin E on broiler chickens. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 31, n. 1, p. 50-53, 1989.

BARRETO, S. L. T.; FERREIRA, W. M.; MORAES, T. Efeito de níveis de vitamina E na dieta sobre o desempenho e concentração de  $\alpha$ -tocoferol na carne de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 4, p. 387-392, 1999.

BARTOV, I. Effect of various dietary factors and age on plasma a-Tocopherol concentration in turkeys. **Poultry Science**, v. 62, n. 4, p. 635-641, 1983.

BETTGER, W. J.; REEVES, P. G.; SAVAGE, J. E.; O' DELL, B. L. Interaction of zinc and vitamin E in the chick. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 163, n. 3, p. 432-436, 1980.

BUNK, M. J.; DNISTRAN, A. M.; SCHWARTZ, M. K.; RIVLIN, R. S. Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. **Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 190, n. 4, p. 379-384, 1989.

BURNS, R. B. Antibody production suppressed in the domestic fowl by zinc deficiency. **Avian Pathology**, v. 12, n. 1, p. 141-142, 1983.

CABEL, M. C.; GOODWIN, T. L.; WALDROUP, P. W. Reduction in abdominal fat content of broiler chickens by the addition of feather meal to finisher diets. **Poultry Science**, v. 66, n. 10, p. 1644-1651, 1987.

COELHO, M. B.; MCNAUGHTON, J. L. Effect of composite vitamin supplementation on broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v. 4, p. 219-229, 1995.

COLNAGO, G. L.; JENSEN, L. S.; LONG, P. L. Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. **Poultry Science**, v. 63, n. 6, p. 1136-1143, 1984.

COMBS JR., G. F. **The vitamins**. San Diego: Academic Press, 1991. 528 p.

CUNNINGHAM, C. H. **Virologia practica**. 6. ed. Zaragoza: Acribia, 1971. 260 p.

DARNENNE, M.; BACH, J. M. Rationale for the mechanism of zinc interaction in the immune system. In: CUNNINGHAM-RUNDLES, S. (Ed.). **Nutrient modulation of the immune response**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 501-509.

DOWNS, K. M.; HESS, J. B.; MACKLIN, K. S.; NORTON, R. A Dietary zinc complexes and vitamin E reducing cellulitis incidence in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 9, n. 3, p. 319-323, 2000.

ERF, G. F.; BOTTJE, W. G.; BERSI, T. K. CD4, CD8, and TCR defined T cell subsets in thymus and spleen of 2-and 7-week-old commercial broiler chickens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 62, p. 339-348, 1998a.

ERF, G. F.; BOTTJE, W. G.; BERSI, T. K.; HEADRICK, M. D.; FRITTS, C. A. Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. **Poultry Science**, v. 77, n. 4, p. 529-537, 1998b.

FERKET, P. R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p. 53-69.

FERKET, P. R. Feeding turkey poults for health and performance. **Lohmann Information**, n. 20, p. 11-17, 1997.

FERKET, P. R.; QURESHI, M. A.; GARLICH, J. D.; RIVES, D. V.; KIDD, M. T. Vitamin E affects performance, immunity and meat quality. **World Poultry-Misset**, v. 11, n. 2, p. 10-15, 1995.

FERKET, P. R.; QURESHI, M. A. Função imune em aves e interações nutricionais. In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE NUTRIÇÃO MINERAL E SEU EFEITO NA IMUNIDADE DAS AVES, 1., 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: Nutron Alimentos Ltda. e Zinpro Animal Nutrition, 1998. v. 1, sem paginação.

FINCH, J. M.; TURNER, R. J. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. **Research Veterinary Science**, v. 60, n. 88-97, 1996.

FRANCHINI, A.; BERTUZZI, S.; MANFREDA, G.; MELUZZI, A.; FRANCIOSI, C. The influence of high doses of dietary vitamin E on the immune response of turkeys. **Zootecnica International**, v. 10, p. 40-46, 1990a.

FRANCHINI, A.; BERTUZZI, S.; MANFREDA, G.; MELUZZI, A. High dose of vitamin E on production of interferons in broilers. **Archiv fur Geflügelkunde**, v. 54, n. 4, p. 143-146, 1990b.

FRANCHINI, A.; BERTUZZI, S.; TOSARELLI, C.; MANFREDA, G. Vitamin E in viral inactivated vaccines. **Poultry Science**, v. 74, n. 4, p. 666-671, 1995.

FRANCHINI, A.; GIORDANI, G.; MELUZZI, A.; MANFREDA, G. High doses of vitamin E in turkey diet. **Archiv fur Geflügelkunde**, v. 54, n. 1, p. 6-10, 1990c.

FRANCHINI, A.; MELUZZI, A.; BERTUZZI, S.; GIORDANI, G. High doses of vitamin E in the broiler diets. **Archiv fur Geflügelkunde**, v. 52, n. 1, p. 12-16, 1988.

FRIEDMAN, A.; BARTOV, I.; SKLAN, D. Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. **Poultry Science**, v. 77, n. 7, p. 956-962, 1998.

FRIGG, M.; WHITEHEAD, C. C.; WEBER, S. Absence of effects of dietary  $\alpha$ -tocopherol on egg yolk pigmentation. **British Poultry Science**, v. 33, p. 347-353, 1992.

GLICK, B. Embryogenesis of bursa of Fabricius: stem cell, microenvironment, and receptor-paracrine pathways. **Poultry Science**, v. 74, p. 419-426, 1995.

GOOD, R. A.; FERNANDES, G.; GAROFALO, J. A.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C.; IWATA, T.; WEST, A. Zinc and immunity. In: PRASAD, A. S.; ALAN, R. (Ed.). **Clinical, biochemical and nutritional aspects of trace elements**. New York: Liss, 1982. p. 189-202.

GORE, A. B.; QURESHI, M. A. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. **Poultry Science**, v. 76, n. 7, p. 984-991, 1997.

HALLIWELL, B.; ARUOMA, O. I. Free radicals and antioxidants: the need for *in vivo* markers of oxidative stress. In: ARUOMA, O. I.; CUPPETT, S. L. **Antioxidante methodology: *in vivo* and *in vitro* concepts**. Champaign: AOCS Press, 1997. p. 1-22.

HILL, C. H. Effect of *Salmonella gallinarum* infection on zinc metabolism in chicks. **Poultry Science**, v. 68, n. 2, p. 297-305, 1989.

JAKOBSEN, K.; ENGBERG, R. M.; ANDERSEN, J. O.; JENSEN, S. K.; LAURIDSEN, C.; SORENSEN, P.; HENCKEL, P.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L. H.; JENSEN, C. Supplementation of broiler diets with all-rac- $\alpha$ - or a mixture of natural source RRR- $\alpha$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocopheryl acetate. 1. Effect on vitamin E status of broilers *in vivo* and at slaughter. **Poultry Science**, v. 74, p. 1984-1994, 1995.

JEURISSEN, S. H. M.; VERVELDE, L.; JANSE, E. M. Structure and function of lymphoid tissues of the chicken. **Critical Review in Poultry Biology**, v. 6, p. 183-207, 1994.

JORGE NETO, G.; DARI, R. N. Produtos químicos alternativos para promotores de crescimento. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2., 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v. 2, p. 217-239.

KIDD, M. T.; ANTHONY, N. B.; NEWBERRY, L. A.; LEE, S. R. Effect of supplemental zinc in either a corn-soybean or a milo and corn-soybean meal diet on the performance of young broiler breeders and their progeny. **Poultry Science**, v. 72, n. 8, p. 1492-1499, 1993.

KIDD, M. T.; ANTHONY, N. B.; LEE, S. R. Progeny performance when dams and chicks are fed supplemental zinc. **Poultry Science**, v. 71, n. 7, p. 1201-1206, 1992.

KIDD, M. T.; FERKET, P. R.; QURESHI, M. A. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. **World's Poultry Science Journal**, v. 52, p. 309-324, 1996.

KIDD, M. T.; QURESHI, M. A.; FERKET, P. R.; THOMAS, L. N. Dietary zinc-methionine enhances mononucleophagocytic function in young turkeys. Zinc-methionine, immunity, and Salmonella. **Biological Trace Element Research**, v. 42, n. 3, p. 217-229, 1994.

KLASING, K. C. Effect of inflammatory agents and interleukin 1 on iron and zinc metabolism. **American Journal of Physiology**, v. 247, p. R901-R904, 1984.

KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**, v. 77, n. 8, p. 1119-1125, 1998.

LATSHAW, J. D. Nutrition – mechanisms of immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 30, n. 1, p. 111-120, 1991.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4th ed. Guelph: University Books, 2001. 591 p.

LESHCHINSKY, T. V.; KLASING, K. C. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 80, n. 11, p. 1590-1599, 2001.

LIKOFF, R. O.; GUPTILL, D. R.; LAWRENCE, L. M.; MCKAY, C. C.; MATHIAS, M. M.; NOCKELS, C. F.; TENDERDY, R. P. Vitamin E and aspirin depress prostaglandins in protection of chickens against *E. coli* infection. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 2, p. 245-251, 1981.

LORSBACH, R. B.; MURPHY, W. J.; LOWENSTEIN, C. J.; SNYDER, S. H.; RUSSEL, S. W. Expression of the nitric-oxide synthase gene in mouse macrophages activated for tumor-cell killing-molecular-basis for the synergy between interferon-gamma and lipopolysaccharide. **Journal Biological Chemistry**, v. 268, n. 3, p. 1908-1913, 1993.

LYON, J. A.; HINSHAW, V. S. Inhibition of nitric oxide induction from avian macrophage cell lines influenza virus. **Avian Diseases**, v. 37, n. 3, p. 868-873, 1993.

MARSH, J. A.; DIETERT, R. R.; COMBS, G.F. Influence of dietary selenium and vitamin E on the humoral immune response of the chick. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 166, n. 2, p. 228-236, 1981.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.

MAURICE, D. V.; LIGHTSEY, S. F.; HSU, K. T.; GAYLORD, T. G. Immunoenhancement in chickens fed excess vitamin E is dependent on genotype and concentration. **Poultry Science**, v. 72, n. 1, p. 55, 1993.

MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. 486 p.

MCLLOROY, S. G.; GOODALL, E.; RICE, D.; McNULTY, M.; KENNEDY, D. G. Improved performance in commercial broiler flocks with subclinical infectious bursal disease when fed diets containing increased concentrations of vitamin E. **Avian Pathology**, v. 22, n. 1, p. 81-94, 1993.

MOHANNA, C.; NYS, Y. Effect of dietary zinc content and sources on the growth, body zinc deposition and retention, zinc excretion and immune response in chickens. **British Poultry Science**, v. 40, n. 1, p. 108-114, 1999.

MONTASSIER, H. J. Importância da imunidade em pintos na primeira semana de vida. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 1998. p. 99-120.

MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.

NATHAN, C.; XIE, Q. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and control. **Cell**, v. 78, n. 6, p. 915-918, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**. 9. ed. Washington, DC: National Academic Press, 1994. 155 p.

O'DELL, B. L. Zinc plays both structural and catalytic roles metalloproteins. **Nutrition Reviews**. v. 50, n. 2, p. 48-50, 1992.

OLIVEIRA, J. B.; PRADO, H. Levantamento pedológico do Estado de São Paulo: quadrícula de São Carlos memorial descritivo. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo de Campinas**, v. 98, p. 1-188, 1984.

PAULILLO, A. C.; BERCHIERI JR., A.; RICHTZENHAIN, L. J.; BARBOSA, J. C.; MONTASIER, H. J.; ARIKI, J.; NAKAGHI, L. O. S.; QUINTANA, J. L. Doença de Newcastle. IV. Ensaio experimental de diferentes vias de vacinação com a estirpe lentogênica Lasota em frangos de corte. **Ars Veterinária**, v. 3, n. 1, p. 73-79, 1987.

PEKAREK. R. S.; HOAGLAND, A. M.; POWANDA, M. C. Humoral and cellular immune responses in zinc deficient rats. **Nutrition Reports International**, v. 16, n. 3, p. 267-276, 1977.

PHILIPS, J. M. Vaccination against Newcastle disease: an assessment of haemagglutination inhibition titres obtained from field samples. **Veterinary Record**, v. 93, n. 22, p. 577-583, 1973.

PIMENTEL, J. L.; COOK, M. E.; GREGER, J. L. Research note: bioavailability of zinc-methionine for chicks. **Poultry Science**, v. 70, n. 7, p. 1637-1639, 1991.

PIMENTEL, J. L.; COOK, M. E. Influence of zinc deficiency on the immune response of the chick. **Poultry Science**, v. 67, n. 1, p. 139, 1988. Supplement 1.

QURESHI, M. A.; FERKET, P. R.; GARLICH, J. D. Effect of dietary supplementation of vitamin E on the immune function of turkeys poults. **Poultry Science**, v. 72, n. 1, p. 56, 1993. Supplement 1. Abstract.

QURESHI, M. A., HUSSAIN, I.; HEGGEN, C. L. Understanding immunology in disease development and control. **Poultry Science**, v. 77, n. 8, p. 1126-1129, 1998.

QURESHI, M. A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2002. p. 243-254.

QURESHI, M. A. Role of macrophages in avian health and disease. **Poultry Science**, v. 77, n. 7, p. 978-982, 1998.

RAZA, F. K.; KHAN, S. A.; RAZA, A.; SAEED, M. A.; BASHIR, I. N. Effect of vitamin E and deficiency and excess on immune system of broiler chickens. **International Journal of Animal Sciences**, v. 12, p. 39-41, 1997.

RUTZ, F. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002a. 375 p.

RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L.; PAN, E. A.; FISCHER, G. Impacto da nutrição vitamínica sobre a resposta imunológica das aves. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 3., 2002, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Universidade Federal de Pelotas, 2002b. p. 105-117.

SANTOS, C. H. C.; SILVA, E. N. Métodos de diagnósticos laboratoriais microbiológicos e sorológicos. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 173-182.

SAS Institute. SAS<sup>®</sup> **User's guide**: statistics, version 8. Cary, 2000.

SCHÜEPP, W.; RETTENMAIER, R. Analysis of vitamin E homologs in plasma and tissue: high-performance liquid chromatography. **Methods Enzymology**, New York, v. 234, p. 294-302, 1994.

SELL, J. L.; TRAMPEL, D. W.; GRIFFITH, R. W. Adverse effects of *Escherichia coli* infection of turkeys were not alleviated by supplemental dietary vitamin E. **Poultry Science**, v. 76, p. 1682-1687, 1997.

SELL, J.; REYNOLDS, D.; JEFFREY, M. Influence of dietary supplementation with vitamin E and ascorbic acid on vitamin E status of pouts. **Poultry Science**, v. 73, p. 13, 1994. Supplement 1.

SOBOCINSKI, P. Z.; CANTERBURY JR., W. J.; POWANDA, M. C. Differential effect of parenteral zinc on the course of various bacterial infections. **Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 156, n. 2, p. 334-339, 1977.

SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; CAMPOS, F. P.; BROGNONI, E. Desempenho e características de carcaça de diferentes linhagens comerciais de frango de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 23, n. 5, p. 782-791, 1994.

STAHL, J. L.; GREGER, J. L.; COOK, M. E. Zinc, copper and iron utilization by chicks fed various concentrations of zinc. **British Poultry Science**, v. 30, n. 1, p. 123-134, 1989.

SWAIN, B. K.; JOHRI, T. S.; MAJUMDAR, S. Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. **British Poultry Science**, v. 41, n. 3, p. 287-292, 2000.

TENGERDY, R. P.; BROWN, J. C. Effect of vitamin E and A on humoral immunity and phagocytosis in *E. coli* infected chicken. **Poultry Science**, v. 56, n. 3, p. 957-963, 1977.

TENGERDY, R. P.; HEINZERLING, R. H.; NOCKELS, C. F. Effect of vitamin E on the immune response of hypoxic and normal chickens. **Infection and Immunity**, v. 5, n. 6, p. 987-989, 1972.

TENGERDY, R. P.; HEINZERLING, R. H.; BROWN, J. C.; MATHIAS, M. M. Enhancement of the humoral immune response by vitamin E. **International Archives Allergy**, v. 44, p. 221-232, 1973.

TENGERDY, R. P.; NOCKELS, C. F. The effect of vitamin E on egg production, hatchability and humoral immune response of chickens. **Poultry Science**, v. 52, n. 2, p. 778-783, 1973.

TENNICAN, P. O.; CARL, G. Z.; CHVAPIL, M. Diverse effects of topical and systemic zinc on the virulence of herpes-simplex genitalis (HSV-2). **Life Sciences**, v. 24, n. 20, p. 1877-1884, 1979.



THOMPSON, J. N.; SCOTT, M. L. Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy to pancreas in selenium-deficient chicks. **Journal of Nutrition**, v. 100, n. 7, p. 797, 1970.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. 532p.

TUFFT, L. S.; NOCKELS, C. F.; FETTMAN, M. J. Effects of *Escherichia coli* on iron, copper, and zinc metabolism in chicks. **Avian Diseases**, v. 32, n. 4, p. 779-786, 1988.

VAINIO, O.; IMHOF, B. A. The immunology and developmental biology of the chicken. **Immunology Today**, v. 6, n. 8, p. 365-370, 1995.

VRUWINK, K. G.; KEEN, C. L.; GERSHWIN, M. E.; MARESCHI, J. P.; HURLEY, L. S. The effect of experimental zinc deficiency on development of the immune system. In: Cunningham-Rundles, S. (Ed.). **Nutrient modulation of the immune response**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 263-279.

WATKINS, K. L.; SOUTHERN, L. L. Effect of dietary sodium zeolite A on zinc utilization by chicks. **Poultry Science**, v. 72, n. 2, p. 296-305, 1993.

WEDEKING, K. J.; HORTIN, A. E.; BAKER, D. H. Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate and zinc oxide. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 1, p. 178-187, 1992.

WEINBERG, E. D. Roles of iron in host-parasite interactions. **Journal of Infectious Diseases**, v. 124, n. 4, p. 401-410, 1971.

WEINSTOCK, D.; SCHAT, K. A.; CALNEK, B. W. Cytotoxic T lymphocytes in reticuloendotheliosis virus-infected chickens. **European Journal of Immunology**, v. 19, n. 2, p. 267-272, 1989.

YANG, N.; LARSEN, C. T.; DUNNINGTON, E. A.; GERAERT, P. A.; PICARD, M.; SIEGEL, P. B. Immune competence of chicks from two lines divergently selected for antibody response to sheep red blood cells as affected by supplemental vitamin E. **Poultry Science**, v. 79, n. 6, p. 799-803, 2000.

YI, Z.; KORNEGAY, E. T.; DENBOW, D. M. Supplemental microbial phytase improves zinc utilization in broilers. **Poultry Science**, v. 75, n. 4, p. 540-546, 1996.