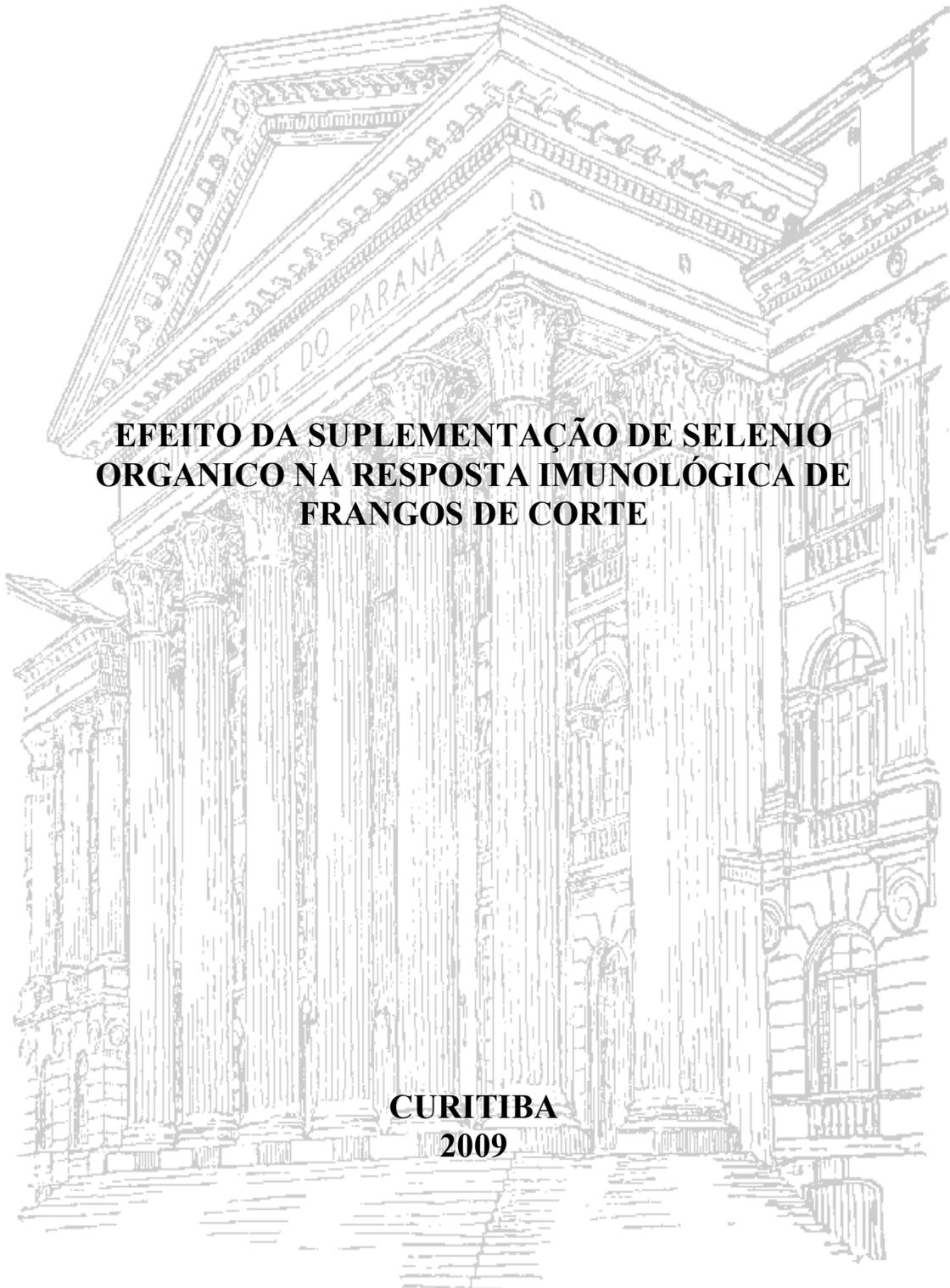


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
MARINA BOLZANI SAAD

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SELENIO  
ORGANICO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE  
FRANGOS DE CORTE**

**CURITIBA  
2009**



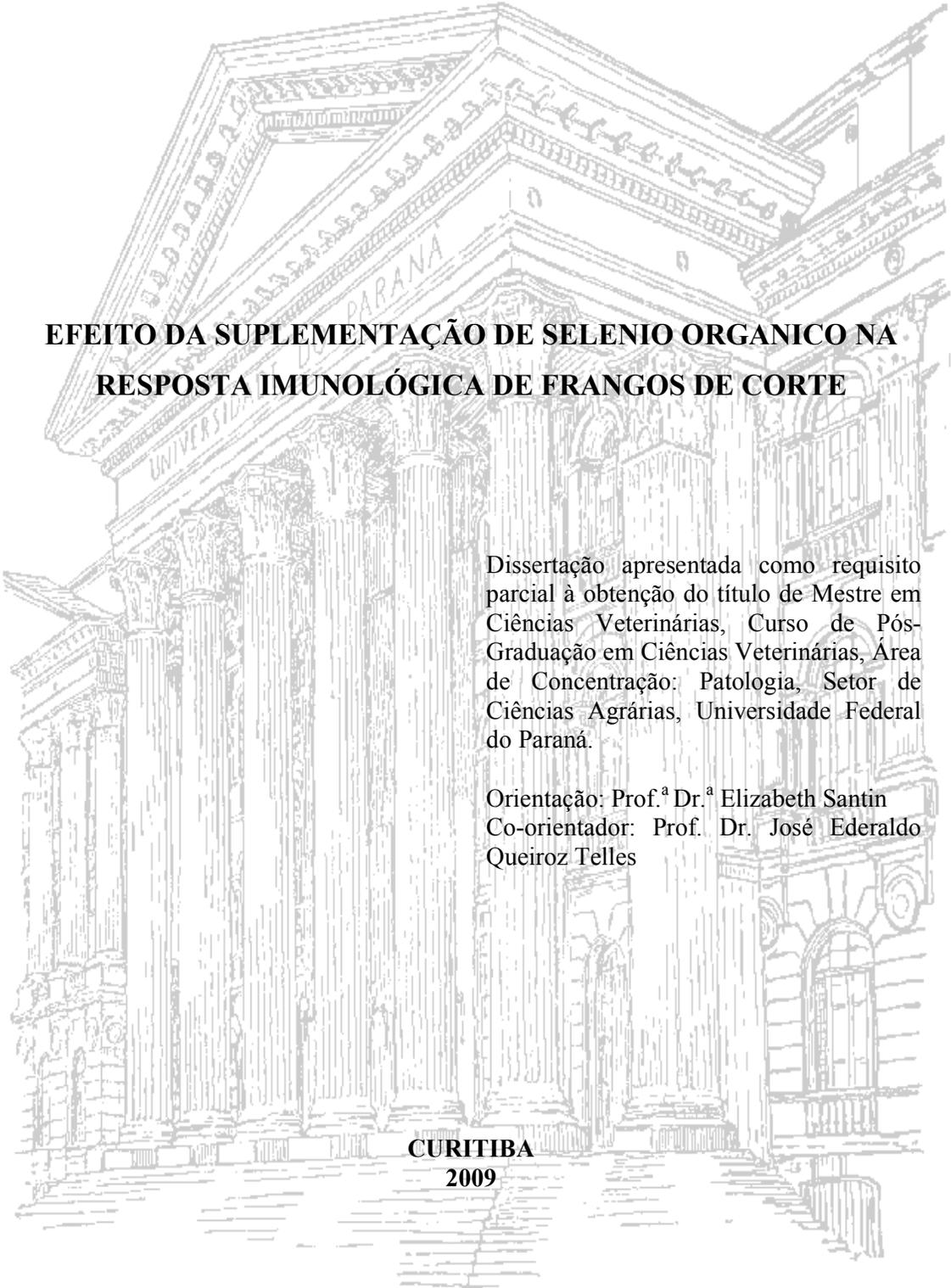
# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARINA BOLZANI SAAD



**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SELENIO ORGANICO NA  
RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração: Patologia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabeth Santin  
Co-orientador: Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles

**CURITIBA  
2009**

Saad, Marina Bolzani

Efeito da suplementação de selênio orgânico na resposta imunológica de frangos de corte / Marina Bolzani Saad.— Curitiba, 2009.

54 f.

Orientadora: Elizabeth Santin.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Frango de corte – Alimentação e rações. 2. Selênio na nutrição animal. 3. Nutrição animal. I. Título.

CDU 636.5.033.084

CDD 636.5084



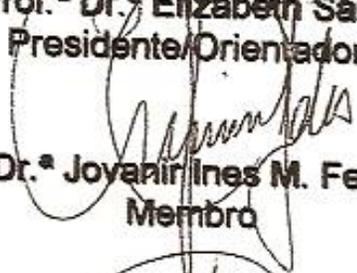
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE SELENIO ORGÂNICO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE FRANGOS DE CORTE" apresentada pela Mestranda MARINA BOLZANI SAAD, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 13 de fevereiro de 2009



Prof.ª Dr.ª Elizabeth Santin  
Presidente/Orientadora



Prof.ª Dr.ª Jovair Ines M. Fernandes  
Membro



Prof. Dr. Fernando Rutz  
Membro

### Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, irmão, amigos e a pessoa amada pelo carinho, compreensão, atenção e, sobretudo, paciência nos momentos difíceis e estressantes.

Aos professores, funcionários e estagiários do laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia, considerados grandes amigos, pelo auxílio e dedicação pelo meu experimento e companheirismo.

Aos funcionários e professores do HC, Departamento de Patologia Médica, pela atenção e suporte técnico no período experimental.

À minha orientadora, que me ajudou muito a crescer profissionalmente.

# SUMÁRIO

<b><u>LISTA DE TABELA.....</u></b>	<b><u>vi</u></b>
<b><u>LISTA DE FIGURAS .....</u></b>	<b><u>vii</u></b>
<b><u>RESUMO .....</u></b>	<b><u>viii</u></b>
<b><u>ABSTRACT .....</u></b>	<b><u>ix</u></b>
<b><u>INTRODUÇÃO GERAL .....</u></b>	<b><u>11</u></b>
<b><u>REFERÊNCIAS.....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<b><u>CAPÍTULO 1 .....</u></b>	<b><u>15</u></b>
<b><u>INFLUÊNCIA DO SELENIO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DAS AVES– REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</u></b>	<b><u>15</u></b>
<b><u>RESUMO.....</u></b>	<b><u>16</u></b>
<b><u>PALAVRAS- CHAVE: SELENIO, SISTEMA IMUNE, AVES, IMUNOMODULAÇÃO. ....</u></b>	<b><u>16</u></b>
<b><u>ABSTRACT.....</u></b>	<b><u>16</u></b>
<b><u>INTRODUÇÃO.....</u></b>	<b><u>16</u></b>
<b><u>FONTES DE SELÊNIO .....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<b><u>FUNÇÃO DO SELÊNIO.....</u></b>	<b><u>19</u></b>
<b><u>AGENTE ANTIOXIDANTE X RADICAIS LIVRES .....</u></b>	<b><u>20</u></b>
<b><u>RELAÇÃO DO SELÊNIO COM SISTEMA IMUNE.....</u></b>	<b><u>21</u></b>
<b><u>IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO SOBRE A PRODUÇÃO AVIÁRIA.....</u></b>	<b><u>25</u></b>
<b><u>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</u></b>	<b><u>25</u></b>
<b><u>REFERÊNCIAS .....</u></b>	<b><u>26</u></b>
<b><u>CAPÍTULO 2 .....</u></b>	<b><u>30</u></b>
<b><u>SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA A VACINAS VIRAIS E PARASITÁRIAS DE FRANGOS DE CORTE.....</u></b>	<b><u>30</u></b>
<b><u>RESUMO.....</u></b>	<b><u>31</u></b>
<b><u>ABSTRACT.....</u></b>	<b><u>31</u></b>

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
ANIMAIS.....	33
AVALIAÇÃO DA DIETA .....	33
PESAGEM .....	35
VACINAÇÃO .....	35
COLHEITA DE SANGUE E ANÁLISES DE TÍTULOS VACINAIS .....	35
EXAMES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.....	36
NECROPSIA .....	36
ANÁLISES HISTOLÓGICAS .....	37
IMUNOHISTOQUÍMICA.....	39
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b><u>CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</u></b>	<b><u>54</u></b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 01. COMPOSIÇÃO DAS DIETAS (INICIAL E CRESCIMENTO) UTILIZADAS NA ALIMENTAÇÃO DOS FRANGOS DE CORTE DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL. ....	34
TABELA 02. GANHO DE PESO (GP) DOS FRANGOS DE CORTE NOS DIFERENTES PERÍODOS E TRATAMENTOS. ....	42
TABELA 03. PORCENTAGEM DE LESÕES INFLAMATÓRIAS MACROSCÓPICAS OBSERVADAS NO DUODENO (DUO) E JEJUNO (JEJ) DE FRANGOS DE CORTE, AOS 21 E 25 DIAS DE IDADE. ....	43
TABELA 04. PORCENTAGEM DE ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS OBSERVADAS NO ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE, AOS 21 E 25 DIAS DE IDADE. ....	43
TABELA 05. HEMOGRAMA DAS COLETAS REALIZADAS AOS 14 E 25 DIAS DE IDADE DOS FRANGOS DE CORTE, NOS DIFERENTES TRATAMENTOS. ....	44
TABELA 06. LEUCOGRAMA DE FRANGOS DE CORTE DOS DIFERENTES TRATAMENTOS, AOS 14 DIAS DE IDADE. ....	44
TABELA 07. LEUCOGRAMA DE FRANGOS DE CORTE DOS DIFERENTES TRATAMENTOS, AOS 25 DIAS DE IDADE. ....	44
TABELA 08. NÍVEIS DE GLOBULINA SÉRICA DE FRANGOS DE CORTE COLETADO SEMANALMENTE, 7, 14, 21 E 25 DIAS, NOS DIFERENTES TRATAMENTOS. ....	45
TABELA 09. TITULAÇÃO DE ANTICORPOS VACINAIS PARA NEWCASTLE, ATRAVÉS DO TESTE DE ELISA. COLETAS DE SORO SEMANALMENTE, 7, 14 E 21 DIAS, NOS FRANGOS DE CORTE DOS DIFERENTES TRATAMENTOS. ....	45
TABELA 10. TITULAÇÃO DE ANTICORPOS VACINAIS PARA DOENÇA DE GUMBORO, ATRAVÉS DO TESTE DE ELISA. COLETAS DE SORO AOS 7, 14 E 21 DIAS NOS FRANGOS DE CORTE DOS DIFERENTES TRATAMENTOS. ....	45
TABELA 11. TITULAÇÃO DE ANTICORPOS VACINAIS PARA NEWCASTLE, ATRAVÉS DO TESTE DE ELISA E INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO. COLETAS DE SORO AOS 21 DIAS, NOS FRANGOS DE CORTE AVES DOS DIFERENTES TRATAMENTOS. ....	46
TABELA 12. QUANTIDADE DE AGLOMERADOS LINFÓIDES PRESENTE NO FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS OU NÃO COM SELÊNIO ORGÂNICO NA RAÇÃO. NECROPSIA AOS 21 E 25 DIAS. ....	46
TABELA 13. HISTOLOGIA DO DUODENO, MENSURAÇÃO DAS VILOSIDADES E CRIPTAS, DAS NECROPSIAS REALIZADAS AOS 21 E 25 DIAS DE VIDA DOS FRANGOS DE CORTE. ....	47
TABELA 14. HISTOLOGIA DO CECO, MENSURAÇÃO DAS VILOSIDADES E CRIPTAS, DAS NECROPSIAS REALIZADAS AOS 21 E 25 DIAS DE VIDA DOS FRANGOS DE CORTE. ....	47
TABELA 15. QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS CD3 <sup>+</sup> NO DUODENO E AGLOMERADOS LINFÓIDES NOS CECOS DOS FRANGOS DE CORTE NECROPSIADOS AOS 21 E 25 DIAS DE VIDA, ATRAVÉS DA ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA. ....	48

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO EPITÉLIO INTESTINAL. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO A MENSURAÇÃO DA ALTURA DAS VILOSIDADES, ATRAVÉS DE SISTEMA ANALISADOR DE IMAGENS (HE, 04x). .....	37
FIGURA 02. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO EPITÉLIO INTESTINAL. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO A MENSURAÇÃO DA PROFUNDIDADE DAS CRIPTAS, ATRAVÉS DE SISTEMA ANALISADOR DE IMAGENS (HE, 04x). .....	38
FIGURA 03. ANÁLISE HISTOLÓGICA. FOTOMICROGRAFIA DE FÍGADO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO PRESENÇA DE AGLOMERADOS LINFÓIDES EM ANIMAIS SUPLEMENTADOS COM 0,2 PPM DE SELÊNIO ORGÂNICO NA DIETA (HE, 10x). .....	38
FIGURA 04. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO LINFÓCITOS T INTRA-EPITELIAIS (SETA VERMELHA) NO ÁPICE DOS VILOS E ENTERÓCITOS (SETA AZUL), ATRAVÉS DA TÉCNICA DE IMUNOHISTOQUÍMICA (40x). .....	39
FIGURA 05. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO MUCOSA INTESTINAL SEM REATIVIDADE AO ANTICORPO CD20 PARA QUANTIFICAÇÃO DE LINFÓCITOS B (IMUNOHISTOQUÍMICA, 40x). .....	40
FIGURA 06. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO LOCAL DE QUANTIFICAÇÃO DE LINFÓCITOS T NA PORÇÃO INTESTINAL (IMUNOHISTOQUÍMICA, 04x). .....	41
FIGURA 07. FOTOMICROGRAFIA DE CECO DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, MOSTRANDO LOCAL DE QUANTIFICAÇÃO DE AGLOMERADOS LINFÓIDES NA PORÇÃO INTESTINAL (IMUNOHISTOQUÍMICA, 04x). .....	41
FIGURA 08. FOTOMICROGRAFIA DE DUODENOS DE FRANGOS DE CORTE COM 21 DIAS DE IDADE, COMPARANDO OS INTESTINOS DOS DIFERENTES TRATAMENTOS (T1- CONTROLE; T2- 0,2PPM Se; T3- 0,4PPM Se) EM RELAÇÃO A QUANTIDADE DE LINFÓCITOS T PRESENTES NA MUCOSA INTRA-EPITELIAL (IMUNOHISTOQUÍMICA, 40x). .....	48

## RESUMO GERAL

Na produção avícola, diversos fatores influenciam no desempenho e saúde animal, sendo um deles a nutrição. O mercado de nutrição animal vem aperfeiçoando as fórmulas de ração e suplementos, com o objetivo de alcançar as necessidades nutricionais dos animais, proporcionando melhor desempenho e baixo custo na produção. Nesse contexto, o selênio ocupa posição de destaque, pois, sabe-se que é um elemento essencial, importante para o aumento da imunocompetência e desempenho produtivo e reprodutivo dos animais. Em relação ao sistema imune, o selênio melhora o *status* imune das aves, com aumento da habilidade imunocompetente das células de defesa para responder a estímulos antigênicos. Entretanto, sua fonte na dieta animal é limitada (forma inorgânica), devido sua toxicidade. Minerais na forma orgânica, recentemente disponível no mercado, estão sendo estudadas como forma mais biodisponíveis e atóxicos para os animais. A presente dissertação busca estudar o efeito do selênio orgânico sobre a resposta imune de frangos de corte. Essa foi dividida em dois capítulos: Capítulo I revisão sobre “A influência do selênio na resposta imunológica das aves” e Capítulo II, trabalho científico, “Suplementação de selênio orgânico na resposta imunológica a vacinas virais e coccidioses de frangos de corte”.

**Palavras-chave:** *selênio, composto orgânico, sistema imune, aves.*

## ABSTRACT

In poultry production, many factors influence in the animal health and performance, being nutrition one of them. The market of animal nutrition comes perfecting formulas of ration and supplements, in order to reach animal nutritional requirements, providing better performance and reducing production costs. In this context, selenium occupies prominence position, therefore, it is known as essential element, important for increase of immunocompetence and the productive and reproductive animal performance. Regarding the immune system, selenium improves birds' immune status by improving the immunocompetence ability of the defense cells to react against antigenic stimuli. However, selenium sources in animal diet is limited (inorganic form), due to its toxicity. Minerals in the organic form, recently available in the market, are being studied as more bioavailable and no toxic to animals. The present thesis aims to study the effect of organic selenium on the immune response of poultry chickens. This was divided in two chapters: Chapter 1 is a review about "The influence of selenium on immune response of birds"; and Chapter 2 is a scientific report, "Organic selenium supplementation on the immunological response against viral and coccidiosis vaccines of poultry chicken".

Keys words: *selenium, compound organic, immune system, chicken.*

## INTRODUÇÃO GERAL

Na produção avícola, sua evolução ao longo dos anos se deve entre vários fatores ao desenvolvimento genético, sanitário e nutricional. Entretanto, a intensa seleção genética aplicada em animais de produção, principalmente para carne e ovos, tem manifestado efeito proporcionalmente negativo sobre a resposta imunológica animal. Ou seja, animais de grande produtividade mostram-se cada vez menos capazes de responder adequadamente a estímulos imunogênicos (DIBNER *et al.*, 1998; MORGULIS, 2002; ZEKARIAS *et al.*, 2002; SWAGGERTY *et al.*, 2003). Nesse cenário de alta produtividade e baixos custos, soma-se também o aumento da exigência do mercado consumidor nas restrições ao uso de aditivos antimicrobianos na ração animal para um alimento mais seguro.

Frente a isso, o mercado nutricional busca constantemente adequações nas fórmulas de ração e suplementos/aditivos para acompanhar a demanda e exigências do mercado, sem prejudicar a produtividade animal. Atualmente, o desafio dos nutricionistas está na busca em formular dietas além dos níveis nutricionais básicos. Elaborar, também, recomendações para manutenção de características produtivas e reprodutivas de animais criados em condições comerciais com ênfase específica na saúde animal. Pois, já está provado que as necessidades de muitos nutrientes são mais elevadas se considerar a imunocompetência e não apenas o ganho de peso e o desenvolvimento. Ou seja, existe variabilidade das exigências do animal de acordo com condições de manejo, e, principalmente, necessidade de produzir resposta inflamatória e imunológica específica para vários patógenos.

A exposição natural aos patógenos endêmicos no ambiente de produção avícola e no uso de vacinas, se constituem um desafio ao sistema imune das aves. Durante esse período, ocorrem alterações metabólicas específicas que desviam nutrientes necessários, devido à elevação do estresse imunológico para a imediata sobrevivência, bem como para prolongamento da resposta imunológica contra mecanismos invasores. O resultado observável do estresse imunológico, geralmente, é a redução da taxa de crescimento e piora na conversão alimentar, já que os nutrientes são desviados para as respostas imunes (BAINS, 1995).

Nesse contexto, para manter a saúde animal, sabe-se, por exemplo, que resposta imune é dependente de várias vitaminas e minerais. Em especial destaca-se o selênio, por apresentar funções imunomoduladoras e antioxidantes no organismo animal. Os

resultados da produção de radicais livres no organismo comprometem muitos sistemas e processos orgânicos, afetando inclusive o ganho de peso, desenvolvimento, reprodução e imunocompetência dos animais (KARADAS e SURAI, 2004). Na produção animal a geração de radicais livres e peroxidação lipídica são responsáveis pelo desenvolvimento de várias doenças, decréscimos na produção animal e qualidade do produto. O papel do selênio está na neutralização dos radicais livres através da enzima antioxidante celular, glutathiona peroxidase (GSH-Px), que auxilia na proteção do conteúdo celular e membranas sub-celulares do dano oxidativo (JACQUES, 2001). A atividade enzimática da GSH-Px no organismo funciona como um antioxidante primário e é importante componente na proteção contra radicais livres em espécies que utilizam o metabolismo oxidativo, sendo crucial para a sobrevivência da célula por catalisar a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (MOREIRA *et al.*, 2001). Além do selênio participar de outras funções importantes no organismo, desempenhando funções indispensáveis na regulação do metabolismo, promovendo o bom crescimento e desempenho reprodutivo.

Até a década de 50, o microelemento selênio foi estudado mais pelos seus efeitos tóxicos do que pelos seus efeitos nutricionais. Hoje, sabe-se que seus efeitos tóxicos são devido a sua forma inorgânica. Na forma de sal, o mineral é capaz de promover a produção de radicais superóxidos e causar estresse oxidativo através da reação de redução com glutathiona reduzida (SURAI, 2002). Por outro lado, a selenometionina, forma orgânica, é um composto de selênio relativamente atóxico, não-catalítico e não redox que exibe baixa toxicidade e não produz superóxido (STEWART *et al.*, 1999).

Na produção avícola, a fonte de selênio encontrada na dieta animal está na forma inorgânica, via selenito de sódio, para atender as necessidades minerais das aves. Alternativamente, fontes orgânicas, hoje disponíveis no mercado, estão sendo estudadas como uma forma aparentemente mais disponível, e de mais eficiente absorção pelos animais. Segundo PIEDRAS *et al.* (2005) a utilização do selênio orgânico (selenometionina), em substituição ao selênio inorgânico, tem-se mostrado mais eficiente, pois melhora o desempenho dos peixes e permite o aumento da concentração do microelemento na musculatura, beneficiando contudo o consumidor final.

Na presente dissertação busca estudar o efeito do selênio orgânico sobre a resposta imune de frangos de corte. O trabalho foi dividido em dois capítulos: Capítulo I

que apresenta uma revisão sobre “A influência do selênio na resposta imunológica das aves” e no Capítulo II um trabalho científico desenvolvido com o objetivo de avaliar o “Efeito do selênio orgânico na resposta imunológica das aves, quando essas são vacinadas contra Coccidiose, doença de Newcastle e Gumboro”, através de análises sorológicas, hematológicas, histológicas e imunohistológicas.

## REFERÊNCIAS

BAINS, BS. Interação: Imunidade x Doença. In: Anais do Simpósio Internacional Ambiente e Instalação na Avicultura Industrial. Campinas-SP. P. 205-212. 1995.

DIBNER, J. J. KNIGHT, C. D., KITCHEL, M. L., ATWELL, C. A., DOWNS, A.C., and IVEY, F. J. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, v.7, p.425-436, 1998.

JACQUES, K.A. Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. In: Science and Technology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 17<sup>th</sup> Annual Symposium (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds), Nottingham University Press, UK, p. 319-348. 2001.

KARADAS, F., SURAI, P.F. *Interações entre selênio e vitamina E: será que 1+1 é igual a mais 2?* In: Anais do Simpósio Brasileiro Alltech: Re-imaginando a indústria de alimentação animal. Biotecnologia Nutricional na Indústria de Alimentação Animal. Editado por Andrea Malaguido e Fernando Rutz. p. 57-69. 2004.

MOREIRA J., DOS SANTOS, C.D., ABREU, C. M.P., BERTECHINI, A.G., OLIVEIRA, D.F., CARDOSO, M.G. Efeito de fonte e níveis de selênio na atividade enzimática da glutathione peroxidase no desempenho de frangos de corte. Lavras, 2001. 6 f. Parte da Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Setor de Ciências Agrotécnicas, Universidade Federal de Lavras.

MORGULIS, M.S. Imunologia aplicada. In: Macari, M. *et al.* Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep, p.231-245. 2002.

PIEDRAS, S.R.N., MORAES, P.R.R., ISOLDI, L.A., POUHEY, J.L.O.F., RUTZ, F. Comparação entre o selênio orgânico e o inorgânico empregados na dieta de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). Instituto da Pesca. São Paulo, v. 31(2). p.171 - 174, 2005.

STEWART, M.S., SPALLHOLZ, J.E., NELDNER, K.H, PENCE, B.C. Selenium compounds have disparate abilities to impose oxidative stress and induce apoptosis. *Free Radical Biology Medicine*. v.26, p.42-48. 1999.

SURAI, P.F. Natural antioxidants in Avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press, Nottingham. 2002.

SWAGGERTY, C.L. *et al.* Association between in vitro heterophil function and the feathering gene in commercial broiler chickens. *Avian Pathology*. v. 32(5), p.483-488, 2003.

ZEKARIAS, B. *et al.* Immunological basis of difference in disease resistance in the chicken. *Veterinary Research*. v. 33, p.109-125. 2002.

**CAPÍTULO 1**  
**INFLUÊNCIA DO SELENIO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DAS**  
**AVES– REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

# A INFLUÊNCIA DO SELÊNIO NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DAS AVES

*(Selenium influence in the immune response of poultry)*

MARINA BOLZANI SAAD

## RESUMO

O selênio é um mineral essencial para a função orgânica no organismo humano e animal. Esse mineral, como componente da enzima glutatona peroxidase, apresenta importante papel na ação antioxidante no organismo, por neutralizar os radicais livres, que é resultado de muitos fatores, principalmente da resposta imune. A dieta, via selenito de sódio, é a principal fonte de selênio. Em aves, as exigências nutricionais, inclusive do selênio, normalmente são calculadas com base em ensaios experimentais com animais saudáveis e em baixas condições de desafio. No entanto, na prática, os animais são expostos a constantes desafios com diferentes infecções e programa vacinal intenso que aumenta a ativação do sistema imunológico. Sobre este aspecto, há estudos que mostram que a ativação da resposta imune aumenta a necessidade de nutrientes, vitaminas e minerais. O objetivo da revisão foi apresentar informações recentes sobre a influência do selênio na resposta imune e as práticas aplicadas na produção de aves que poderiam usar este mineral sobre a modulação da resposta imune.

**Palavras- chave:** selênio, sistema imune, aves, imunomodulação.

## ABSTRACT

Selenium is an essential mineral for organic function on animal and human organism. This mineral, as component of the enzyme glutatona peroxidase, presents important function in antioxidant action in the organism, for neutralizing the free radicals, that are resultant from many factors, mainly from the immune response. The diet, with sodium selenite, is the major source of selenium. In poultry, the nutritional requirements, including selenium, normally was calculated based on experimental assays, using healthful animals in low challenge conditions. However, on practical way, the animals are constantly exposed to different infection challenges and intense vaccine program that increase the activation of immune system. On this aspect, there are studies that show that the activation of immune response increases the necessity of nutrients, vitamins and minerals. The objective of this review was to present recent information about influence of selenium on immune response and the applied practices on poultry production that could use this mineral on modulation of immune response.

**Keys words:** *selenium, immune system, poultry, immune modulation.*

## INTRODUÇÃO

A intensa seleção genética aplicada em animais de produção, principalmente para carne e ovos, tem sido indicada como tendo efeito proporcionalmente negativo sobre a resposta imunológica. Diversos autores têm apresentado que animais de grande produtividade mostram-se também cada vez menos capazes de responder adequadamente a estímulos imunogênicos (DIBNER *et al.*, 1998; MORGULIS, 2002; ZEKARIAS *et al.*, 2002; SWAGGERTY *et al.*, 2003). Linhagens comerciais de aves selecionadas para desempenho produtivo otimizado apresentam macrófagos com menor capacidade de atividade fagocítica e metabolismo oxidativo (ZEKARIAS *et al.*, 2002; SWAGGERTY *et al.*, 2003).

Por outro lado, na cadeia de produção animal, cada vez mais rações balanceadas tem sido empregadas para atender as necessidades orgânicas dos animais. Entretanto, apesar de que ao longo dos anos as fórmulas de alimento para animais serem padronizadas em tabelas internacionalmente conhecidas, sabe-se que há variabilidade das exigências do animal de acordo com condições de manejo, e, principalmente, quando há necessidade de produzir resposta inflamatória e imunológica específica para vários patógenos. Em condições de homeostase, as necessidades nutricionais são diferentes de quando o animal está em condição de estresse, ou seja, o sistema imunológico animal é um consumidor modesto de nutrientes e recursos orgânicos, porém, uma vez ativado, torna-se um grande sorvedouro de energia e nutrientes, alterando sua exigência nutricional.

Sabe-se que, por exemplo, a resposta imune é dependente de várias vitaminas e minerais (MAIORKA e MACARI, 2002), dentre os quais, o selênio ocupa posição de destaque por desempenhar funções indispensáveis na regulação do metabolismo, promovendo o bom crescimento e desempenho reprodutivo, neutralizando os radicais livres e defendendo o organismo contra infecções (SURAI, 2000).

## FONTES DE SELÊNIO

O selênio é um micromineral, que foi isolado e identificado em 1817, pertence ao grupo 16 da tabela periódica, e está localizado entre os elementos químicos, enxofre e telúrio. Esse microelemento está presente na natureza de duas formas químicas: orgânica e inorgânica. O selênio inorgânico pode ser encontrado em diferentes fontes na forma de selenito, selenato e seleneto. Já os orgânicos, selenometionina e selenocisteína, são provenientes de alimentos vegetais e animais, destacando a castanha de caju e o peixe, como fontes ricas desse mineral, respectivamente.

A principal fonte de selênio na dieta para as aves está na forma inorgânica, como selenito de sódio, normalmente incluídos como suplementação mineral, uma vez que a quantidade existente de selênio nos ingredientes da dieta não é suficiente para atender os requerimentos do animal. Os níveis de selenito de sódio na ração apresentam-se limitados devido a sua toxicidade e interações com outros minerais. Segundo estudos realizados por GAD E ABD EL-TWAB (2008) em codornas, altos níveis de selenito administrado oralmente nas aves por um mês induziram lesões hepáticas oxidativas, interferindo nos parâmetros sanguíneos e bioquímicos, além do desempenho dos animais.

Outro fator desfavorável do mineral inorgânico refere-se a sua forma de absorção e retenção no organismo, que propicia baixa eficiência na transferência para os produtos de origem animal - como leite, carne e ovos - e pobre habilidade de sustentar reservas de selênio no corpo (SURAI, 2000).

Já na forma orgânica, o selênio apresenta-se mais biodisponível para o animal, devido sua forma de absorção e metabolização serem diferentes da forma inorgânica. Eles são absorvidos pelos carreadores intestinais de aminoácidos e não por transportadores intestinais clássicos de minerais, através do transporte passivo. Esse modo diferenciado de absorção evita competição entre os minerais pelo mesmo mecanismo de absorção, além de apresentar menor toxicidade (SCHRAUZER, 2000). Outro fator específico dessa forma de mineral está envolvido no metabolismo e fixação no organismo animal. Após a absorção intestinal, a forma orgânica pode ser metabolizada pelos animais como aminoácidos (EKHOLM *et al.*, 1991) e não excretada. Isso ocorre especialmente com selênio associado à metionina (SeMet), que, de forma similar à metionina, pode ser incorporado a proteínas pelo mesmo códon AUG, pois o tRNA não diferencia a metionina da SeMet. Em consequência, 40-50% do

Se corporal podem ser SeMet inserida em proteínas do tecido muscular, denominadas selenoproteínas não-funcionais (DANIELS, 1996), aumentando seu potencial de fixação no organismo animal.

Essa maior biodisponibilidade do mineral deve-se a sua ligação com aminoácidos, como a metionina e cisteína, formando moléculas chamadas selenometionina ou selenocisteína, respectivamente. A forma orgânica é encontrada naturalmente nas plantas (KELLY e POWER, 1995), e pode ser biossintetizada pelas leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, que contém níveis elevados de selênio ligado a aminoácidos (BURK, 1976). Esses nutrientes, ligado a proteínas/aminoácidos, apresentam melhor digestibilidade e disponibilidade. O aumento da digestibilidade está associado a maior solubilidade, melhor estabilidade no lúmen e ao tipo de ligação que serve como um carregador eficiente para o mineral atravessar a mucosa intestinal. Uma vez absorvido, há também um maior potencial de retenção, visto que existe uma menor possibilidade de excreção quando incorporado em moléculas de proteína.

Vários estudos demonstram a biodisponibilidade do selênio orgânico, em aumentar a concentração desse nutriente em produtos de origem animal, em várias espécies animais, especialmente na carne de frango (DOWNS *et al.*, 2000; LENG *et al.*, 2003).

## **FUNÇÃO DO SELÊNIO**

O selênio é um micromineral essencial para os animais e seres humanos por participar de diversas funções vitais no organismo, como no sistema reprodutivo e, principalmente, no sistema imune, sendo considerado como um agente imunomodulador.

Desde a década de 50, ficou claro que o selênio é um nutriente essencial na nutrição animal, e essa descoberta foi expandida pelo conhecimento de que o selênio é parte integrante de uma enzima, a glutathiona peroxidase (GSH-Px), enzima antioxidante celular, que auxilia na proteção do conteúdo celular e membranas sub-celulares do dano oxidativo (JACQUES, 2001). Enquanto a vitamina E é um antioxidante específico da membrana, o selênio atua como componente da GSH-Px dentro do citoplasma, principalmente, destruindo os peróxidos antes que estes causem danos. Seu papel como antioxidante está na versatilidade da capacidade de oxi-redução no centro ativo da

enzima GSH-Px, uma característica fundamental para sua ação na eliminação de peróxidos (ARTEEL e SIES, 2001).

A atividade enzimática da GSH-Px no organismo funciona como um antioxidante primário e é importante componente na proteção contra radicais livres em espécies que utilizam o metabolismo oxidativo, sendo crucial para a sobrevivência da célula por catalisar a redução de peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (MOREIRA *et al*, 2001). Hidroperóxidos são tóxicos, e se não removidas das células danificam a estrutura da membrana e funções celulares (SURAI, 2000).

O nível de atividade da enzima GSH-Px está relacionado com o suprimento de selênio no organismo (WATANABE *et al.*, 1997). Usualmente, a atividade de GSH-Px é considerada como um indicador da localização de selênio em uma variedade de espécies (GANTHER, 1979). Essa enzima, além, de ter grande relação com a prevenção da formação de peróxidos dentro das células, também atua em conjunto com a enzima tiredoxina redutase, que contribui para restabelecer o sistema endógeno antioxidante (TAPIERO *et al*, 2003).

## **AGENTE ANTIOXIDANTE E RADICAIS LIVRES**

O selênio desempenha várias funções importantes no organismo animal, entre eles: função específica na síntese de prostaglandinas e no metabolismo de ácidos graxos essenciais; ativação dos hormônios tireoideanos. E, como destaque, papel essencial na obtenção de uma resposta imune adequada, através da neutralização dos radicais livres (JACQUES, 2001).

Na produção animal, a geração de radicais livres e peroxidação lipídica são responsáveis pelo desenvolvimento de várias doenças, decréscimos na produção animal e qualidade do produto (SURAI, 2000).

Os radicais livres, por sua vez, são átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons não pareados em sua órbita mais externa, capazes de reagir com outras moléculas contra as quais colidem, resultando em destruição celular (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999; NORDBERG e ARNÉR, 2001; CAMPBELL e FARRELL, 2007). Os principais mecanismos de síntese fisiológica de radicais livres de oxigênio ocorrem no processo de fagocitose de bactérias por neutrófilos, monócitos e macrófagos, cujos radicais  $O_2^-$  originam-se da ativação da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato – NADPH oxidorreductase, que

provoca uma explosão respiratória e o consumo de oxigênio duas a vinte vezes acima do normal (FANTONE e WARD, 1982).

Vários relatos indicam que entre os radicais mais lesivos para as células encontram-se o radical  $\text{OH}^\cdot$ , e os constituintes mais afetados por radicais livres são os ácidos graxos poliinsaturados (AGP), das membranas celulares (plasmática, mitocondrial e lisossomal), proteínas (enzimas celulares e constituintes da matriz extracelular), e ácidos nucléicos (principalmente cromossomos). O alvo celular primário pode variar, dependendo da célula, do tipo de estresse imposto e quão severo é esse estresse, entretanto, todos os tipos de biomoléculas são susceptíveis a ação das espécies reativas ao oxigênio (ERO) (STOREY, 1996).

Em condições fisiológicas normais, existe um balanço entre a formação das substâncias oxidantes e sua efetiva remoção por antioxidantes, os quais controlam a relação redox prevalente nos sistemas biológicos. Distúrbios na produção de oxidante/antioxidante em favor do oxidante levam a danos celulares denominados “estresse oxidativo” (GUTTERIDGE, 1999; ALVAREZ e MORAES, 2006).

Diversos fatores estão envolvidos na produção de radicais livres e ação dos antioxidantes, e, conseqüentemente, relacionados à imunocompetência dos animais. Segundo ORCHSENDORF (1999), alguns fatores possibilitam produção de radicais livres e o efeito do estresse oxidativo, como: respostas inflamatórias sistêmicas, septicemias, aumento do metabolismo celular e perda da capacidade antioxidante do organismo. E outros fatores, podem diminuir a ação dos agentes antioxidante, como por exemplo: rações formuladas com níveis deficientes de minerais e vitaminas que auxiliam nos processos antioxidantes, agentes competidores na absorção intestinal (como enxofre, cádmio, prata e mercúrio) e doenças entéricas que diminuem a absorção, principalmente, de Se e vitamina E (GUEDES e NOGUEIRA, 1994; RIET-CORREA *et al.*, 2003). Esses fatores, favoráveis a produção de radicais livres, contribuem com o desequilíbrio do balanço oxidante/antioxidante no organismo, ocasionando prejuízos a imunocompetência dos animais.

## **RELAÇÃO DO SELÊNIO COM SISTEMA IMUNE**

O micromineral selênio (Se), até a década de 50, foi mais enfatizado pelos seus efeitos tóxicos do que pelos seus efeitos nutricionais. A partir daí, foi reconhecido como elemento traço essencial na prevenção das lesões hepáticas, musculares e vasculares em

ratos e aves alimentados com dietas contendo selênio (COMBS, 2001). Trabalho realizado por CANTOR *et al.* (1975) permitiu observar que a presença de selênio nas dietas para aves diminuía a incidência da distrofia muscular, melhorava a fertilidade e eclodibilidade, a qualidade da carcaça e o fortalecimento do sistema imune (UTTERBACK *et al.*, 2005; PAYNE *et al.*, 2005).

Também, vários estudos comprovaram a influência do selênio sobre o sistema imune. De acordo com LENG *et al.* (2003), o selênio melhora o status imune dos frangos com aumento da habilidade imunocompetente das células de defesa para responder a estímulos antigênicos. Esse mineral também apresenta ação antiinflamatória, segundo estudos de SHILO *et al.* (2008), o selênio atua na resposta inflamatória dos macrófagos, diminuindo a ativação de interleucinas (IL-6), controlando assim casos de síndromes de resposta inflamatória sistêmica.

O envolvimento do selênio com o sistema imunológico inicia-se desde a fase embrionária das aves, entre o 10º e 15º do desenvolvimento embrionário, onde ocorre significativa absorção de selênio e vitamina E pelo embrião. Nesta fase é que ocorre maior absorção da gordura do saco vitelínico pelo embrião. Grande parte deste conteúdo lipídico é composto por gordura insaturada, passível de peroxidação. Nesse momento é que os agentes antioxidante irão atuar na neutralização dos radicais livres. Essa proteção contra os radicais livres é realizada pelos antioxidantes naturais (vitamina E, carotenóides, ácido ascórbico), enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase) e minerais componentes (Se) ou cofatores de enzima (Zn, Mn e Fe). Esses nutrientes, em especial o Se, são primariamente provenientes da dieta materna. Trabalhos de pesquisa (CANTOR *et al.*, 1975; PATON *et al.*, 2002) têm observado que a concentração do selênio no ovo é dependente da concentração e fonte de selênio utilizada, os quais poderiam influenciar de forma diferente no desenvolvimento dos embriões, principalmente entre a 10º e 15º dias de incubação.

Diversos fatores estão envolvidos na produção de radicais livres e ação dos antioxidantes, e, conseqüentemente, relacionados à imunocompetência dos animais. Como exemplo, em condições de infectividade as células imunes fagocíticas produzem radicais livres no processo de fagocitose dos patógenos. Sem adequada reserva de nutrientes antioxidantes, as membranas celulares e importantes organelas podem ser prejudicadas por essas substâncias, reduzindo, assim, a efetividade das células imunes (SURAI, 2000). Ocorre diminuição da efetividade do sistema de defesa, pois são nessas

células onde, logo após a fagocitose de bactérias, há um aumento da produção de radicais livres, especialmente  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  dentro do lisossomo, que podem lesionar as membranas das células fagocitárias. Essa ação na membrana das células de defesa, promove alterações na sua estrutura e permeabilidade, resultando em perda da seletividade iônica, liberação de enzimas das organelas e formação de produtos citotóxicos, que inativam receptores das proteínas da membrana, interferindo na principal função das células de defesa, que é a fagocitose. Além disso, os radicais livres causam outros danos celulares que resultam em morte celular, diminuindo, assim, o número dessas células para proteger o organismo contra os patógenos (RHODEN *et al.* 1998; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Os radicais livres também podem interferir na produção e função de anticorpos, pois como são proteínas, o ataque desses radicais atua na modificação dos aminoácidos, oxidação dos grupos sulfidrílicos (SH), conduzindo a alterações conformacionais, alteração da atividade enzimática, quebra das ligações peptídicas, quebra das ligações entre metais e proteínas, alteração da antigenicidade e aumento da suscetibilidade proteolítica (STOREY, 1996).

Ainda, referindo-se a ação dos radicais livres sobre o sistema imune, um dos constituintes mais afetados pelos radicais é os ácidos graxos poliinsaturados (AGP), como é o caso dos ácidos linoléico e araquidônico. O ácido araquidônico influencia na resposta inflamatória, infecções e na resposta imunitária, por ser esse, o principal precursor de diversas classes de moléculas sinalizadoras, como os leucotrienos, que é um agente homeostático, envolvido na manutenção da integridade dos sistemas inflamatórios (SILVA *et al.*, 2002), podendo, dessa forma, esses sistemas serem afetados pelos radicais livres.

Dessa maneira, pode-se dizer que direta ou indiretamente a presença de selênio em dietas traz, de alguma forma, a melhora na resposta imunológica dos animais, incluindo a produção de anticorpos, proliferação celular, produção de citocinas, metabolismo das prostaglandinas e função dos neutrófilos. Estudo realizado por Hegazy e Adachi (2000), avaliando dietas contendo selênio sobre a resposta imune de aves contaminadas com salmonella e aflatoxina, observaram melhoria no *status* imune devido ao aumento de anticorpos e redução do timo e bolsa cloacal (também conhecida por bursa de Fabricius). ARTHUR *et al.* (2003) detectaram que ratos com deficiência de selênio apresentavam linfócitos com menor capacidade de proliferação, logo,

prejudicando os macrófagos, e as células T e B. Como consequência dessa deficiência, os macrófagos reduziram sua capacidade fagocítica, ou seja, seu mecanismo oxidativo na destruição de antígenos englobados. Estas células são consideradas importantes na resposta imune celular das aves, pois apresentam capacidade específica que as tornam fundamentais como agentes avançados do sistema imunológico, como a fagocitose, que lhes permite englobar partículas antigênicas e mesmo agentes agressores íntegros (como leveduras e bactérias), destruindo-os quase que imediatamente (MORGULIS, 2002; ERF, 2004). Nas aves, a efetividade dessas células é fundamental, principalmente, em processos agudos de inflamação, por serem essas as células de maior concentração nas respostas inflamatórias (MORGULIS, 2002).

Além dos macrófagos, o selênio também participa das atividades dos linfócitos. O timo demonstra ter especial afinidade pelo selênio devido a sua posição para maturação das células T, que controlam muitos aspectos do sistema imune. Dessa maneira, quando há deficiência de selênio no organismo animal, a proliferação dos linfócitos, tanto linfócito T como B são prejudicados. Consequentemente, outros componentes do sistema imune também apresentam-se diminuídos nesta deficiência, como por exemplo: IgM, IgG, IgA, em ratos, e IgG e IgM, em humanos, como foi comprovado por ARTHUR *et al.* (2003) em seus estudos.

As células de defesa granulocíticas, como os heterófilos das aves, equivalentes aos neutrófilos dos mamíferos, também sofrem influência do selênio para exercer seu papel de defesa na resposta imune inespecífica das aves. Isso se deve a manutenção da capacidade fagocitária, que elas possuem, ser acompanhada pelo aumento da atividade da glutathiona peroxidase, que permite a proteção dos heterófilos contra radicais de oxigênio produzidos durante a fagocitose de organismos estranhos. Essas células contêm em seu citoplasma grânulos com ação bactericida, ou seja, com atividade oxidativa e hidrolítica, mediada por enzimas contidas em seu interior, que são as enzimas antioxidantes dependentes de selênio (SWAGGERTY *et al.*, 2003).

Estudos em humanos, realizados por BURBANO *et al.* (2002), concluíram que a suplementação de Se diariamente apresenta efeito benéfico no tratamento de pacientes infectados com o vírus do HIV-1. Em relação a outras doenças em humanos, alguns autores afirmam que o selênio tem se mostrado bastante promissor, uma vez que, estudos epidemiológicos têm sugerido que o risco de certas doenças, inclusive o câncer, estaria relacionadas com o baixo consumo de selênio (KAKIZOE, 2003; WHANGER,

2004). E de acordo com alguns autores, a suplementação de selênio poderia ser útil para impedir cânceres em humanos (ZENG e COMBS, 2008), Doença de Alzheimer (JOSHUA *et al.* 2008), além de inflamações crônicas e infecções persistentes (FELIX *et al.*, 2004).

### **IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO SOBRE A PRODUÇÃO AVIÁRIA**

Um dos grandes desafios atuais na área de produção animal, em especial na produção avícola, é a proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento. Estes produtos não podem ser incluídos na alimentação dos frangos de corte pelos produtores da Comunidade Européia desde janeiro de 2006. Países exportadores, como o Brasil, igualmente deixaram de contar com estas ferramentas. Como consequência, busca-se encontrar alternativas para compensar essa ausência, sem que o desempenho do animal seja prejudicado no final da produção, além de manter a produção de carne em larga escala, com qualidade e viabilidade econômica. Desta maneira, para se obter uma ave cada vez mais produtiva e resistente às doenças, há necessidade de um sistema imunológico eficiente para enfrentar com seus próprios recursos uma imensa variedade de agentes agressores oriundos do meio e do próprio sistema de criação adotado pela avicultura moderna.

Uma das ferramentas das quais pode-se lançar mão para o estímulo da imunidade das aves é a nutrição. Assim, o selênio ocupa posição de destaque por desempenhar funções indispensáveis na regulação do metabolismo, promovendo uma resposta imune eficaz, neutralizando os radicais livres e defendendo o organismo contra infecções (SURAI, 2000).

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A intensa seleção genética em animais de produção e o decréscimo do uso de aditivos antimicrobianos na ração animal têm exigido maiores estudos sobre exigências nutricionais do animal, principalmente, em relação ao sistema imunológico, devido aos efeitos negativos que esses fatores podem causar sobre a imunocompetência animal. Sabe-se que a nutrição é uma das principais vias para suprir as necessidades orgânicas dos animais e garantir desempenho e produtividade associado a um efetivo sistema de defesa contra agentes patogênicos. Várias vitaminas e minerais participam da regulação do sistema imunológico dos animais, atuando como agentes imunomoduladores e

antioxidantes. Nesse contexto, a influência do selênio, bem como outras vitaminas e minerais, sobre o sistema imune merece constante estudo.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ, C.A., MORAES, G.V. Efeito da selenometionina e vitamina C sobre o sêmen. *Revista de Saúde e Biologia*. V.1, n.1, p.42-51, 2006.

ARTEEL, G.E.; SIES, H. The biochemistry of selenium and glutathione system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. v. 10, p. 153-158, 2001.

ARTHUR, J.R., MCKENZIE, R.C and BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. *Journal Nutrition*. 133:1457S-1459S. 2003.

BURBANO, X., MIGUEZ-BURBANO, M. J., MCCOLLISTER, K., ZHANG, G., RODRIGUEZ, A., RUIZ, P., LECUSAY, R. & SHOR-POSNER, G. Impact of a selenium chemoprevention clinical trial on hospital admissions of HIV-infected participants. *HIV Clinical Trials* 3:483-491. 2002.

BURK, R.F. Selenium in man. In: *Trace Elements in Human Health and Disease* (A.S. Prasad and D. Oberleas, eds.). Academic Press, New York, pp. 105-133. 1976.

CAMPBELL, M.K., FARRELL, S.O. *Bioquímica*. 5 ed., São Paulo: Thomson Learning, 2007, 265p.

CANTOR, A. H., LANGEVIN, M. L., NOGUCHI, T. & SCOTT, M. L. Efficacy of selenium in selenium compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. *Journal Nutrition* 105:106-111. 1975.

COMBS, G. F., Jr .Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*. 85:517-547. 2001.

DANIELS, L.A. Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research*, v.54, p.185-199, 1996.

DOWNS K. M., HESS J. F. Selenium source effect on broiler carcass characteristics, meat quality and drip loss. *Journal of Applied Animal Research*, 18:61-72. 2000.

DIBNER, J. J. KNIGHT, C. D., KITCHEL, M. L., ATWELL, C. A., DOWNS, A.C., and IVEY, F. J. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, v.7, p.425-436, 1998.

EKHOLM, P. et al. Transport of feed selenium to different tissues of bulls. *British Journal of Nutrition*, v.66, p.49-55, 1991.

ERF, G.F. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science* 83:580-590, 2004.

FANTONE, J.C., WARD, P.A. Role of oxygen-derived free radical and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. American Association of Pathologists, v.107, n.3, p.398-417, 1982.

FELIX, K., GERSTMEIER, S., KYRIAKOPOULOS A., HOWARD, O. M. Z., DONG, H.-F., ECKHAUS, M., BEHNE, D., BORNKAMM, G. W., and JANZ, S. Selenium Deficiency Abrogates Inflammation-Dependent Plasma Cell Tumors in Mice Cancer Research, 64(8): 2910 – 2917. 2004.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Revista da Associação Médica Brasileira, v.43, n. 1, p.61-68, 1997.

GAD, M.A.; ABD EL-TWAB, S.M. Selenium toxicosis assessment (*in vivo* and *in vitro*) and the protective role of vitamin b12 in male quail (*coturnix coturnix*). Environmental Toxicology and Pharmacology. p. 30, 2008.

GANTHER, H.E. Metabolism of hydrogen selenide and methylated selenides. In: DRAPER, H.H. (eds.) Advances in nutritional research. New York: Plenum Press, v.2, p.107-128, 1979.

GUEDES, R.M.C., NOGUEIRA, R.H.G. Efeito da deficiência de vitamina E e selênio sobre a formação e propagação dos radicais livres de oxigênio e as principais alterações provocadas em suínos. A Hora Veterinária, v.14, n. 81, p. 69-74, 1994.

GUTTERIDGE, J.M.C. Does redox regulation of cell function explain why antioxidants perform so poorly as therapeutic agents. Redox Report, v.4, n.3, p.129-131, 1999.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. New York: Oxford University Press, 1999. 936p.

HEGAZY SM, ADACHI Y. Comparison of the effects of dietary selenium, zinc and selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated *Salmonella* and Aflatoxin or *Salmonella*. Poultry Science 79:331-335. 2000.

HUAWEI, Z.; COMBS JR, G.F. Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. Journal of Nutritional Biochemistry 19, p.1-7, 2008.

JACQUES, K.A. Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. In: Science and Technology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 17<sup>th</sup> Annual Symposium (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds), Nottingham University Press, UK, 2001. p. 319-348.

KAKIZOE, T. Chemoprevention of cancer – focusing on clinical trials, Japanese Journal of Clinical Oncology 33(9):421–442. 2003.

KELLY, M.P.; POWER, R.F. Fractionation and identification of the major selenium compounds in selenized yeast. J. Dairy Sci. 78(Suppl. 1):237. 1995.

LENG, L., R. BOBZEK, S. KURIKOVÁ, K. BOLDIZÁROVÁ, L. GREŠÁKOVÁ, Z. ŠEVCÍKOVÁ, V. RÉVAJOVÁ, LEVKUTOVÁ, M., LEVKUT, M. Comparative metabolic and immune responses of chickens fed diets containing inorganic selenium and Sel-Plex™ organic selenium. In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry, Proceedings of Alltech's 19th Annual Symposium (K.A. Jacques and T.P. Lyons, eds). Nottingham University Press, UK, 2003. p. 131-145.

MAIORKA, A., MACARI, M. Absorção de minerais. In: Macari, M. *et al.* Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep, 2002. p.172.

MOREIRA J., DOS SANTOS, C.D., ABREU, C. M.P., BERTECHINI, A.G., OLIVEIRA, D.F., CARDOSO, M.G. Efeito de fonte e níveis de selênio na atividade enzimática da glutathione peroxidase no desempenho de frangos de corte. Lavras, 2001. 6 f. Parte da Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Setor de Ciências Agrotécnicas, Universidade Federal de Lavras.

MORGULIS MS. Imunologia Aplicada. In: Macari M, Furlan RL, Gonzáles E. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 231-245. 2002.

NORDBERG, J., ARNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology e Medicine*, v.31, n.11, p.1287-1312, 2001.

OCHSENDORF, F.R. Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Human Reproduction Update*, v.5, n.5, p. 399-420, 1999.

PAYNE R.L., LAVERGNE T.K., SOUTHERN L.L. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science*. 84, 232-237. 2005.

PATON, ND, CANTOR, AH, PESCATORE, AJ, FORD, MJ and SMITH, CA. The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryos. *Poultry Science* 81: 1548-1554. 2002.

RHODEN, E.L., MAURI, M., PETTEFFI, L., DACANAL, F., PILLA, M., BELLO-KLEIN, A., TELOKEN, C., BARROS, E., RHODEN, C.R. Efeito do alopurinol sobre a lipoperoxidação de membranas celulares renais na síndrome da isquemia e reperfusão: estudo experimental em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.13, n.2, p.73-79, 1998.

RIET-CORREA, F., TABOSA, I.M., AZEVEDO, E.D., MEDEIROS, R.T., SIMÕES, S.V.D., DANTAS, A.F. Doenças dos ruminantes e eqüinos no semi-árido da Paraíba. *Semi-árido em Foco*, v.1, n.1, 2003. 116p.

SCHRAUZER, G.N. Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell Molecul. Life Sci*. 57:1864-1873. 2000.

SHILO, S.; PARDO, M.; AHARONI-SIMON, M.; GLIBTER, S.; TIROSH, O. Selenium supplementation increases liver MnSOD expression: Molecular mechanism for hepato-protection. *Journal of Inorganic Biochemistry* 102, p.110–118, 2008.

SILVA, R.R., OLIVEIRA, T.T., NAGEM, T.J., LEÃO, M.A. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. *Medicina*, v.35, p.127-133, 2002.

SONNEN, J.A.; BREITNER, J.C.; LOVELL, M.A.; MARKESBERY, W.R.; QUINN, J.F.; MONTINE, T.J. Free radical-mediated damage to brain in Alzheimer's disease and its transgenic mouse models. *Journal Free Radical Biology & Medicine* 45, p. 219-230, 2008.

STOREY, K.B. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.29, n.12, p.1715-1733, 1996.

SURAI, P.F. 2000. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: *Biotechnology in the Feed industry. Proceedings of Alltech's 16<sup>th</sup> Annual Symposium* (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds) Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 205-260.

SUZUKI K. T., SHIOBARA Y., ISHIWATA K., OHMICHU M. Speciation by HPLC/ICP – MS with use of stable isotopes: chemical reactions in the metabolism of selenium administered as selenite. *J. Inorganic Biochem*, 67:21. 1997.

SWAGGERTY, C.L.; PEVZNER, I.Y.; FERRO, P.J.; CRIPPEN, T.L.; KOGUT, M.H. Association between in vitro heterophil function and the feathering gene in commercial broiler chickens. *Avian Pathology* 32(5): 483-488. 2003.

TAPIERO H., TOWNSEND D.M., TEW K.D., The antioxidant role of selenium and seleno-compounds, *Biomed Pharmacother* 57, 2003. pp. 134–144.

UTTERBACK, PL; PARSONS, CM; YOON, I; BUTLER, J. Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content. *Poultry science* 84(12):1900-1901. 2005.

WATANABE,T., KIRON, V., DATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*, v. 151, p. 185-207, 1997.

WHANGER, P. D. Selenium and its relationship to cancer: an update. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v. 91, n. 1, p. 11-28, 2004.

ZEKARIAS, B., TER HUURNE, A., LANDMAN, W. J. M., REBEL, J. M. J., POL, J. M. A., and GRUYS, E.. Immunological basis of differences in disease resistance in the chicken. *Veterinary Research*. 33:109-125. 2002.

**CAPÍTULO 2**  
**SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO NA RESPOSTA**  
**IMUNOLÓGICA A VACINAS VIRAIS E PARASITÁRIAS DE**  
**FRANGOS DE CORTE.**

## SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO ORGÂNICO (SEL-PLEX®) NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA A VACINAS VIRAIS E COCCIDIOSE EM FRANGOS DE CORTE.

*(Organic selenium supplementation (Sel-Plex®) in the immune response to viral and coccidiosis vaccines for broiler.)*

MARINA BOLZANI SAAD

### RESUMO

Os minerais são considerados fundamentais para manutenção da saúde e desempenho dos animais. Em especial, o selênio, por desempenhar funções indispensáveis na regulação do metabolismo, promovendo o bom crescimento, desempenho reprodutivo, e principalmente, auxiliando no sistema imunológico. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação de selênio orgânico na resposta imunológica em frangos de corte, quando esses foram vacinados contra coccidiose e doenças de Newcastle e Gumboro. O estudo foi delineado em 3 tratamentos (T), sendo um controle (somente com selênio inorgânico contido na dieta base), T2= dieta base+0,2 ppm de selênio orgânico na forma de selenometionina e selenocisteína (Sel-Plex®), T3= dieta base+0,4 ppm de selênio orgânico (Sel-Plex®). Os parâmetros analisados foram ganho de peso, níveis hematológicos e sorológicos, titulação de anticorpos. Nos intestinos foram analisadas severidade de lesões macroscópicas, morfometria de vilos e criptas e imunohistoquímica para detecção de células CD3<sup>+</sup> na mucosa e submucosa intestinal. As aves suplementadas com selênio orgânico apresentaram maior número de células CD3<sup>+</sup>, no duodeno e menor severidade de lesões intestinais quando comparadas às aves do grupo controle. O selênio orgânico, também, influenciou positivamente no ganho de peso destes animais quando as aves foram desafiadas com vacinas virais e coccidiose.

**Palavras-chaves:** selênio, sistema imune, frangos de corte.

### ABSTRACT

Minerals are considered fundamental to maintaining health and performance of animals. In particular, selenium, responsible to essential functions in regulating metabolism, promoting a regular growth, reproductive performance, and especially, helping the immune system. The aim of this study was to evaluate the effect of organic selenium supplementation in the immune response in broiler, when they were vaccinated against coccidiosis, Gumboro and Newcastle diseases. The study was designed in 3 treatments (T), and a control (only with inorganic selenium in the basal diet), T2 = basal diet + 0.2 ppm of organic selenium as selenomethionine and selenocysteine (Sel-Plex®), T3 = basal diet + 0.4 ppm of organic selenium (Sel-Plex®). The parameters analyzed were weight gain, hematological and serological levels, titulation of antibodies. In the intestines, were examined severity of macroscopic lesions, morphology of villi and crypts and immunohistochemical to detect CD3<sup>+</sup> cells in the intestinal mucosa and submucosa. Birds supplemented with organic selenium had higher number of CD3<sup>+</sup> cells in the duodenum and reduced severity of intestinal lesions when compared to birds in the control group. The organic selenium also influenced positively in the weight gain in these animals, when the birds were challenged with viral and coccidiosis vaccines.

**Keywords:** selenium, immune system, broiler

## INTRODUÇÃO

Na produção animal, diversos fatores afetam o desempenho e a saúde animal, sendo um deles a nutrição. No mercado de nutrição animal, a cada ano se busca o aperfeiçoamento das fórmulas de ração e suplementos alimentares, com o objetivo de alcançar as necessidades nutricionais dos animais, proporcionando melhor desempenho e baixo custo na produção.

Sabe-se que grande parte das substâncias requeridas pelo animal para função metabólica normal não são produzidas pelo organismo ou são sintetizadas, porém em quantidade inferior a necessidade e por isso devem ser fornecidas continuamente através da dieta. Esses nutrientes são, então, adicionados na dieta animal para atender as necessidades orgânicas dos animais. Entretanto, apesar de ao longo dos anos fórmulas de alimento para animais serem padronizadas em tabelas internacionalmente conhecidas, sabe-se que as necessidades de muitos nutrientes são muito mais elevadas se considerarmos a imunocompetência e não apenas o ganho de peso e o desempenho animal (KARADAS e SURAI, 2004).

Entre essas substâncias essenciais estão os minerais, que são fundamentais para manutenção da saúde e desempenho dos animais. Em especial, o selênio, por desempenhar funções indispensáveis na regulação do metabolismo, promovendo o bom crescimento, desempenho reprodutivo, e principalmente, auxiliando no sistema imunológico, neutralizando os radicais livres e defendendo o organismo contra infecções (SURAI, 2000).

Dessa forma, níveis adequados de selênio são necessários para a imunocompetência dos animais, e na deficiência deste mineral resulta em insuficiência das respostas celular e humoral do sistema imune de humanos e de animais (RAYMAN, 2000), com comprometimento da função fagocitária, proliferação de linfócitos e produção de anticorpos (SURAI, 2002).

Devido à importância desse mineral no metabolismo animal, é considerado elemento essencial, presente em todos os ingredientes das rações. Entretanto, nem sempre em níveis adequados, o que leva à necessidade de reposição, incluindo-o na fórmula da alimentação das aves, normalmente na forma inorgânica (selenito de sódio). Sabe-se, porém, que na forma de sal, esse mineral é limitante por apresentar alta toxicidade. Além disso, minerais inorgânicos precisam inicialmente ser solubilizados em forma iônica para serem absorvidos no trato gastrointestinal. Entretanto, estas

formas iônicas possuem cargas elétricas, podendo interagir com outros componentes da dieta (minerais, proteínas, carboidratos) e tornando-os parcialmente indisponíveis para o animal (RUTZ *et al.*, 2004).

Recentemente, uma área de investigação nutricional que tem se destacado é o uso de minerais orgânicos que apresenta maior biodisponibilidade dos nutrientes ao animal. Frente a isso, delineou-se o presente estudo, com o objetivo de avaliar o efeito do selênio orgânico na resposta imunológica a vacinas virais e coccidiose suplementado na ração de frangos de corte.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Animais**

Foram utilizados 150 frangos de corte, distribuídos em um desenho experimental inteiramente casualizado com três tratamentos e 50 repetições, sendo cada ave uma repetição, onde T1= dieta controle (somente com selênio inorgânico contido na dieta base), T2= dieta suplementada com 0,2 ppm de selênio orgânico na forma de selenometionina e selenocisteína (Sel-Plex®), T3= dieta suplementada com 0,4 ppm de selênio orgânico na forma de selenometionina e selenocisteína (Sel-Plex®).

As aves foram identificadas através de anilhamento na membrana da asa e alojadas de 01 a 25 dias de vida em boxes experimentais em baterias verticais. Todas as aves receberam alimento formulado com base na NRC (1994), de acordo com Tabela 1 e água *ad libitum* durante o período experimental, com controle de temperatura, mantendo-se o perfeito conforto das aves nesse ambiente. Do 1° ao 19° dias de vida as aves foram alimentadas com dieta inicial, e a partir do 20° dia receberam dieta de crescimento.

### **Avaliação da Dieta**

As dietas dos diferentes tratamentos e períodos foram analisadas, quanto seus níveis nutricionais, antes de serem oferecidas aos animais do experimento. Os níveis nutricionais e selênio quantitativo foram realizados de acordo com a metodologia do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal - (2005), conforme apresentada na Tabela 01.

TABELA 01. Composição das dietas (inicial e crescimento) utilizadas na alimentação dos frangos de corte durante o período experimental.

INGREDIENTES%	DIETA INICIAL		DIETA CRESCIMENTO	
	NÍVEIS			
	Bromatológico	Calculado	Bromatológico	Calculado
Proteína	23,94	22,989	23,46	21,037
Extrato Etéreo	7,57	-	6,95	-
Resíduo Mineral	5,44	-	5,62	-
Fibra Bruta	3,04	-	2,69	-
Cálcio	0,97	0,909	0,93	0,889
Fósforo Total	0,68	0,744	0,64	0,665
Fósforo Disponível	-	0,459	-	0,397
Sódio	0,13	0,186	0,13	0,180
Potássio	-	0,929	-	0,848
Cloro	-	0,305	-	0,298
Triptofano	-	0,252	-	0,228
Lisina	-	1,166	-	1,051
Metionina	-	0,542	-	0,469
Met. + Cist.	-	0,870	-	0,774
Treonina	-	0,796	-	0,728
Arginina	-	1,512	-	1,373
Leucina	-	1,830	-	1,698
Isoleucina	-	0,930	-	0,846
Histidina	-	0,568	-	0,522
Valina	-	1,007	-	0,924
Fenilalanina	-	1,054	-	0,965
EM Aves Kcal/kg	-	3.001,708	-	3.192,364
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	-	0,1	-	0,09
Premix Mineral <sup>2</sup>	-	0,05	-	0,045
Selênio dieta	0,06 mg/kg	-	0,20 mg/kg	-
Se dieta + 0,2ppm Se org	0,23 mg/kg	0,2 mg/kg	0,27 mg/kg	0,2 mg/kg
Se dieta + 0,4ppm Se org	0,39 mg/kg	0,4 mg/kg	0,38 mg/kg	0,4 mg/kg

<sup>1</sup> Vitamínico (1Kg/ton): Vit A-8000000 UI, Vit D3-2000000 UI, Vit E-16000 UI, Ac. Fólico-800 mg, Ac. Pantotênico-10000 mg, Biotina-60 mg, Vit B2-4000 mg, Vit B6-2000 mg, BHT-100 mg, Vit B1-1500 mg, Vit B3-2000 mg, Vit B12-10000 mg, Niacina-30000 mg.

<sup>2</sup> Mineral (0,5Kg/ton): Zinco-110000mg, Selênio-360 mg, Iodo-1400 mg, Cobre-20000 mg, Manganês-156000 mg, Ferro-96000 mg.

### **Pesagem**

As aves foram pesadas no primeiro, 7º, 14º, 21º e 25º dias de vida. Não houve mortalidade durante o período experimental.

### **Vacinação**

No sétimo dia de vida as aves receberam vacina contra Coccidiose, Doença de Newcastle e Gumboro, por via ocular numa dose de 0,03mL por ave. E aos 14 dias receberam nova dose de vacina contra Doença de Newcastle e Gumboro. A vacina utilizada para Coccidiose (Bio-CoccivetR®), obtida do Laboratório Biovet®, apresentava-se em suspensão viável contendo aproximadamente 400 oocistos de *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. máxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*. E nas vacinas virais, para Doença de Newcastle (New-Vaxin®HB1) a dose infectante média (DIE<sub>50</sub>) de 10<sup>5,5</sup> e para vacina de doença de Gumboro (Gumborek®-L), a DIE<sub>50</sub> de HVT-FC 126 foi de 10<sup>3,0</sup>, obtidas do laboratório Shering Plough Animal Health®.

### **Colheita de Sangue e Análises de Títulos vacinais**

Semanalmente, as aves foram submetidas à colheita de sangue para avaliação sorológica. A venopunção foi realizada mediante contenção física manual dos animais, preferencialmente na veia jugular direita com seringa de 3mL e agulha 13x4,5 e uma quantidade de sangue coletada em torno de 1% do peso corporal dos animais. O sangue foi acondicionado em tubos de vidro identificados, com e sem anticoagulante (heparina), para análise sanguínea e sorológica, respectivamente.

No soro, foram avaliados níveis bioquímicos, como Proteína Total e Albumina, para obter os níveis de Globulina Sérica, e titulação de anticorpos vacinais contra o vírus de Doença de Gumboro e Newcastle, através de testes imunoenzimáticos (ELISA-teste). As análises foram processadas através de kit comercial ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) do Laboratório Idexx® e os dados obtidos foram de absorbância. E para leitura do teste o aparelho utilizado foi Biotek ELX 800®.

Na titulação de anticorpos vacinais para Doença de Newcastle, também, foi realizado teste da Inibição da Hemaglutinação (IH). Foram utilizadas microplacas (fundo em “v”) de 96 orifícios e hemácias frescas de cobaias (*Meleagris gallopavo*), coletadas com anticoagulante, Alsever, e lavadas em PBS, para obtenção de hemácias puras, sem impurezas. Na 1ª etapa para titulação viral, a suspensão viral utilizada na

técnica de IH é titulada através da técnica de HA, contendo 8 unidades hemaglutinantes (UHA). Na 2ª etapa, os soros a serem testados foram diluídos previamente em PBS e adicionados às placas (50 microlitros/orifício) nas diluições de 1: 2 a 1: 4096. Após, 50µl de uma suspensão do vírus, contendo 8 UHA, são adicionados a cada diluição do soro. Após 15min de incubação à temperatura ambiente, foram adicionados 50µl de uma suspensão de hemácias a 1:20. A placa foi incubada por uma hora à temperatura ambiente. O título foi expresso mediante a multiplicação do número de UHA (8 UHA) usadas pela recíproca da maior diluição do soro que inibiu completamente a hemaglutinação.

### **Exames Hematológicos e Bioquímicos**

No 14º e 25º dia de vida das aves foram realizadas colheitas de sangue para avaliação dos parâmetros hematológicos, tanto hemograma como leucograma. Na série vermelha do sangue foram analisados os Eritrócitos Totais, Hematócrito, Hemoglobina e Proteína Plasmática Total. E na série branca, analisados os Leucócitos Totais e a diferenciação desses em: Heterófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Basófilos.

Após a colheita, o sangue heparinizado foi refrigerado imediatamente e analisado dentro de 24h. Primeiramente, uma gota de sangue sem aditivo foi utilizada no ato da coleta para o preparo de lâmina com extensão sanguínea para contagem diferencial de leucócitos, sendo seca ao ar, identificada com caneta indelével e guardada para posterior coloração pelo método de Wright. Na análise dos parâmetros hematológicos, a contagem dos eritrócitos e leucócitos totais foi realizada em câmara de Neubauer com solução de Azul de Cresil Brillhante, e o diferencial dos leucócitos (Heterófilos, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Basófilos) em esfregaço sanguíneo, corados com Wright.

Para bioquímica sérica, os métodos utilizados foram: Proteínas Totais - Método do Biureto; Albumina - Método do Verde de Bromo Cresol - e Globulina - somente pelo método matemático, diferença entre proteínas totais e albumina. As análises séricas foram realizadas em Sistema Bioquímico Automático CELM SBA-200.

### **Necropsia**

Aos 21 e 25 dias de vida das aves, cinco aves de cada tratamento foram eutanasiadas utilizando barbitúricos e necropsiadas para avaliação de escores de lesões

no trato digestório (intestinos) e respiratório, considerando: 0 sem lesão; +1 lesão leve; +2 lesão moderada; +3 lesões severas, segundo o sistema de lesão de JOHNSON e REID (1970). Também foram coletadas amostras, em solução formalina tamponada a 10%, de fígado, duodeno, e ceco para avaliação histológica, morfométrica e imunohistoquímica (somente para duodeno e ceco).

### **Análises histológicas**

As amostras de fígado, duodeno e cecos foram processadas e coradas com Hematoxilina & Eosina para análise histológica. As variáveis estudadas nos intestinos foram altura dos vilos (FIGURA 01) e profundidade de criptas (FIGURA 02), com leitura de 50 vilos e 30 criptas em cada grupo experimental (MAIORKA *et al.*, 2000). As análises morfométricas do epitélio intestinal foram feitas em microscopia de luz, em sistema analisador de imagens (Motic Images Plus 2.0-Motic China Group Co.2006), acoplado ao microscópio (Olympus BH2 Olympus America INC., NY, USA).

Figura 01. Análise morfométrica do epitélio intestinal. Fotomicrografia de duodeno de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando a mensuração da altura das vilosidades, através de sistema analisador de imagens (HE, 04x).

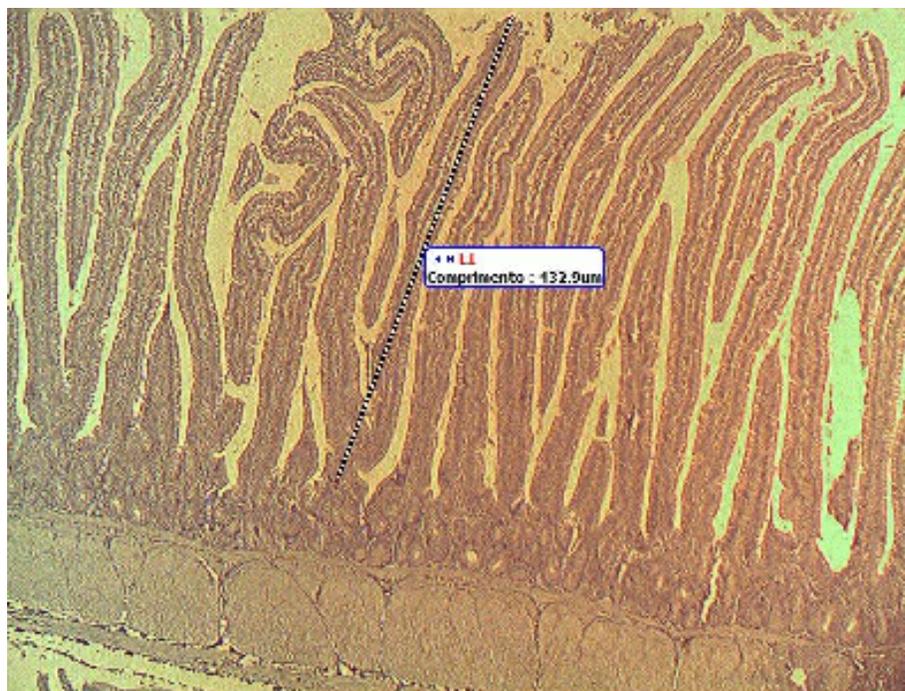
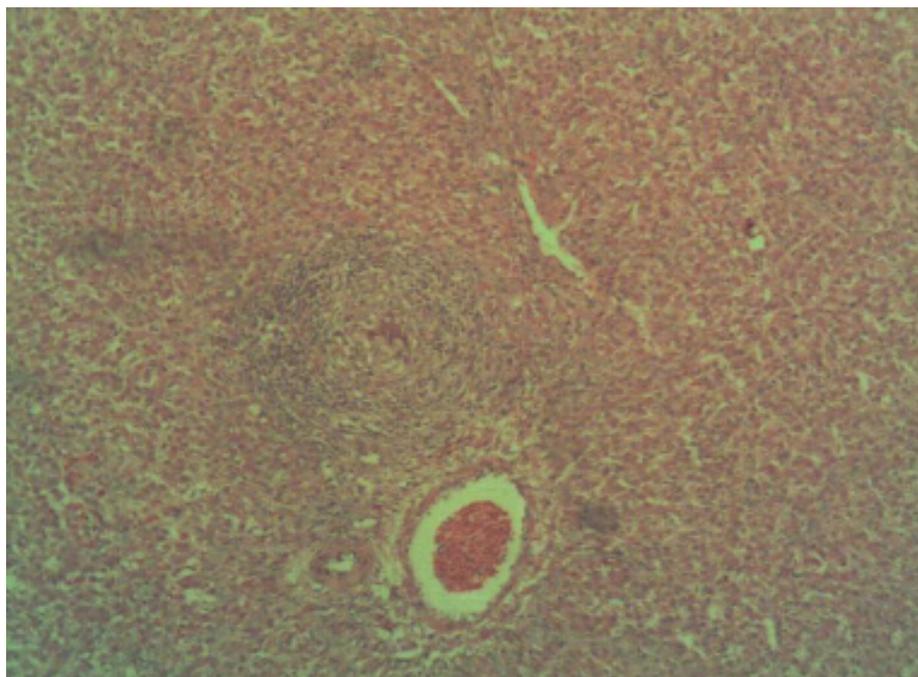


Figura 02. Análise morfométrica do epitélio intestinal. Fotomicrografia de duodeno de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando a mensuração da profundidade das criptas, através de sistema analisador de imagens (HE, 04x).



Nas amostras de fígado foram analisadas presença de aglomerados linfóides (FIGURA 03) e morfologia hepática normal. Porções do fígado com presença de aglomerados linfóides foram quantificados em toda extensão da lâmina em microscopia de luz com aumento de 10X (Olympus BH2 Olympus America INC., NY, USA).

Figura 03. Análise histológica. Fotomicrografia de fígado de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando presença de aglomerados linfóides em animais suplementados com 0,2 ppm de selênio orgânico na dieta (HE, 10x).



### Imunohistoquímica

As seções para imunohistoquímica foram desparafinadas em estufa a 60° C por 10 min e re-hidratação em xilol e álcool. A recuperação antigênica foi realizada com Tampão Citrato pH 6,0 em banho-maria, 100° C por 20 min e o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3% e proteína bloqueadora, por 8 min e 5 min, respectivamente. Anticorpo primário utilizado foi Anti-CD3, diluído 1:300, por 40 min. Para detecção da reação foi utilizado anticorpos secundários anti-camundongo e anti-coelho combinados num mesmo sistema de amplificação, kit ADVANCE®, por 40 min, e para revelação utilizou-se cromógeno, kit DAB®, por 5 min. A contra-coloração foi realizada com hematoxilina por 5 min, após desidratação e montagem das lâminas silanizadas.

Na definição do anticorpo primário de eleição para detecção de linfócitos T em frangos de corte foram necessários testes pilotos realizados no laboratório BIOGEN®, em São Paulo. Foram realizados testes com anticorpos Mono e Policlonais anti-CD3 para detecção de linfócitos T no duodeno e cecos das aves. O anticorpo primário de eleição para frangos de corte foi Anticorpo Policlonal anti-CD3, DAKO®, laboratório BIOGEN® - São Paulo, como mostra FIGURA 04. Também foram testados a reatividade de anticorpos anti-CD20 e anti-CD79 para detecção linfócitos B em frangos de corte, porém sem sucesso (FIGURA 05). Os tecidos de controle positivo utilizados para esses testes foram tonsilas humanas normais.

Figura 04. Fotomicrografia de duodeno de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando células CD3+ intra-epiteliais (seta vermelha) no ápice dos vilos e enterócitos (seta azul), através da técnica de Imunohistoquímica (40x).

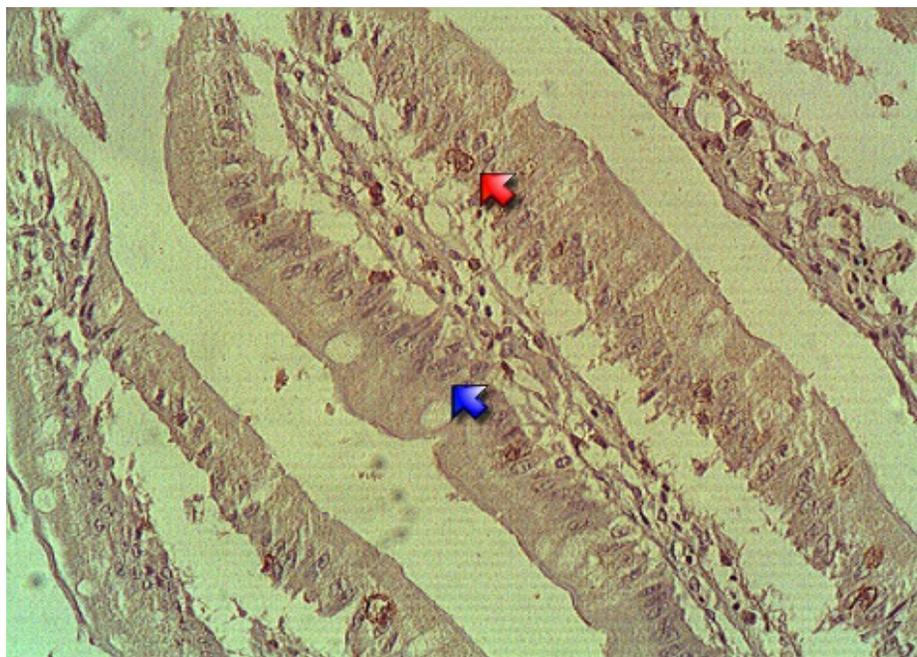


Figura 05. Fotomicrografia de duodeno de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando mucosa intestinal sem reatividade ao Anticorpo CD20 para quantificação de linfócitos B (Imunohistoquímica, 40x).



As análises imunohistoquímicas dos intestinos foram feitas em microscopia de luz, em sistema analisador de imagens (Motic Images Plus 2.0-Motic China Group Co.2006), acoplado ao microscópio (Olympus BH2 Olympus America INC., NY, USA). Nas amostras de duodeno foi realizada a quantificação de linfócitos T intra-epiteliais, na porção apical dos vilos, considerando campo como, número de linfócitos T/100 enterócitos (FIGURA 06). Nas amostras de cecos foi avaliada presença de aglomerados linfóides em toda extensão do tecido, na região da lâmina própria (FIGURA 07).

Figura 06. Fotomicrografia de duodeno de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando local de quantificação de células CD3+ na porção intestinal (Imunohistoquímica, 04x).

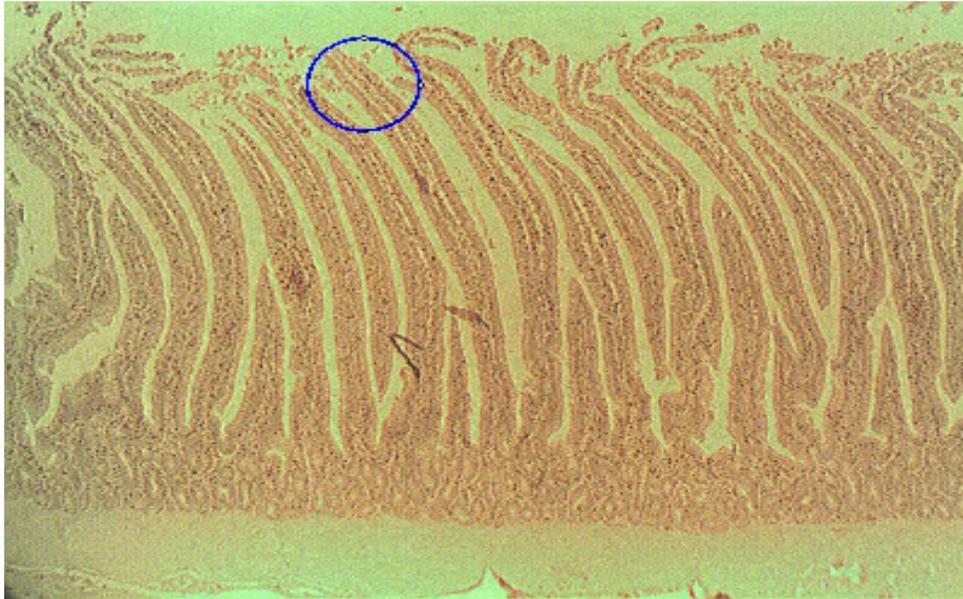
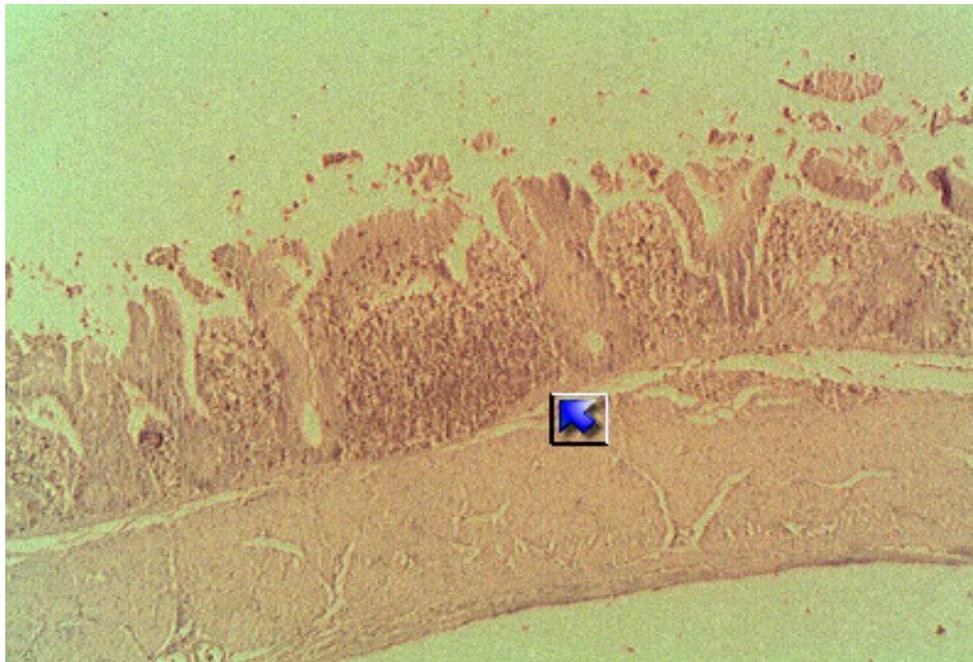


Figura 07. Fotomicrografia de ceco de frangos de corte com 21 dias de idade, mostrando local de quantificação de aglomerados linfóides na porção intestinal (Imunohistoquímica, 04x).



### Análise Estatística

Todos os resultados obtidos foram analisados pelo programa estatístico Statistix for Windows Copyright (C) 1985, 96 Analytical Software, para análise estatística. Os dados de titulação de anticorpos avaliados por ELISA e inibição da hemaglutinação foram transformados em log10. Os testes realizados foram o ANOVA ( $P < 0,05$ ) e caso as médias obtidas apresentassem diferença significativa, essas eram submetidas ao teste de Tukey.

### RESULTADOS

De acordo com a tabela 02, na primeira semana de vida não houve diferença significativa para ganho de peso das aves entre os tratamentos. Entre os 14 e 21 dias esse ganho de peso teve diferença significativa ( $P = 0,02$ ), mostrando uma relação positiva entre ganho de peso e aumento nas concentrações de selênio orgânico suplementados na dieta, mas isso não foi verificado aos 25 dias de vida.

Tabela 02. Ganho de peso (GP) dos frangos de corte nos diferentes períodos e tratamentos.

Grupos	Ganho de Peso (g)				
	1 a 7 dias	7 a 14 dias	14 a 21 dias	21 a 25 dias	1 a 25 dias
<b>Controle</b>	116,2±19,3	305,5±49,0	398,5± 51,3 b	272,8± 46,8	1079,9± 133,4
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	114,4±17,3	308,6±40,6	411,1± 49,7 ab	272,2± 74,2	1101,0± 126,5
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	111,1±17,5	317,5±49,2	428,3± 51,8 a	272,8± 52,7	1132,6± 103,0
<b>P</b>	0,374	0,411	0,020	0,990	0,156

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

A avaliação das lesões inflamatórias mostrou que no duodeno 40% das aves do grupo controle, necropsiadas aos 21 dias, e 20%, aos 25 dias, apresentaram lesões de grau moderado. Enquanto que nas aves dos grupos suplementados com selênio orgânico não apresentaram ou apresentaram lesões de grau leve. No jejuno, nas aves do grupo controle, necropsiadas aos 25 dias de vida, 60% apresentaram lesões leves, enquanto que 80% das aves suplementadas com selênio orgânico não apresentaram lesões (TABELA 03).

Tabela 03. Porcentagem de lesões inflamatórias macroscópicas observadas no duodeno (Duo) e jejuno (Jej) de frangos de corte, aos 21 e 25 dias de idade.

GRUPOS	<u>21 dias</u>								<u>25 dias</u>							
	0		+		++		+++		0		+		++		+++	
	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej	Duo	Jej
<b>Controle</b>	40	80	-	20	40	-	20	-	-	40	60	60	20	-	-	-
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	80	80	-	20	-	-	20	-	40	80	60	20	-	-	-	-
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	40	100	40	-	-	-	20	-	60	80	40	20	-	-	-	-

Já no íleo (TABELA 04), em relação à inflamação das placas de Peyer, as aves suplementadas com selênio orgânico apresentaram maior número desse tecido linfóide edemaciado e congesto aos 25 dias comparado as aves do grupo controle, mostrando um maior estímulo do sistema imune nos animais com maior suplementação de selênio.

Tabela 04. Porcentagem de alterações macroscópicas observadas no íleo de frangos de corte, aos 21 e 25 dias de idade.

GRUPOS	ÍLEO (%)					
	Alimento não-digerido		Bolo alimentar muco-hemorrágico		Inflamação Placas de Peyer	
	21 dias	25 dias	21 dias	25 dias	21 dias	25 dias
<b>Controle</b>	--	80	80	20	80	20
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	20	--	--	--	40	80
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	20	20	--	--	20	60

Em relação aos cecos, não foram observadas lesões inflamatórias macroscópicas nas aves necropsiadas aos 21 e 25 dias de vida (dados não mostrados). As lesões observadas nas necropsias em aves com 21 e 25 dias de idade, tanto no intestino delgado como no intestino grosso, foram mais frequentes e de maior intensidade em aves não suplementadas com selênio orgânico na dieta.

Não foram observadas diferenças estatísticas nos parâmetros hematológicos dos animais entre os diferentes tratamentos, tanto no hemograma como no leucograma (TABELAS 05 a 07). Porém, houve uma tendência ao aumento das células brancas nas aves suplementadas com maior concentração de Se orgânico na dieta, principalmente nos heterófilos e linfócitos aos 25 dias de vida das aves. Essas células representam

importância significativa na resposta imune das aves, a primeira realiza fagocitose dos patógenos e a outra participa da produção de anticorpos.

Tabela 05. Hemograma das coletas realizadas aos 14 e 25 dias de idade dos frangos de corte, nos diferentes tratamentos.

Grupos	Eritrócitos ( $\times 10^6$ )		HT (%)		PPT (g/dl)		Hb (g/dl)	
	14 dias	25 dias	14 dias	25 dias	14 dias	25 dias	14 dias	25 dias
<b>Controle</b>	2,0 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,1	31,2 $\pm$ 1,3	32,6 $\pm$ 1,6	2,96 $\pm$ 0,2	3,4 $\pm$ 0,2	13,8 $\pm$ 0,6	15,0 $\pm$ 1,9
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	2,1 $\pm$ 0,2	2,6 $\pm$ 0,2	31,7 $\pm$ 1,5	33,6 $\pm$ 2,0	2,95 $\pm$ 0,2	3,7 $\pm$ 0,1	15,0 $\pm$ 1,6	15,7 $\pm$ 1,0
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	2,1 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 1,5	32,8 $\pm$ 3,7	2,96 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,4	14,1 $\pm$ 1,8	16,3 $\pm$ 1,6
<b>P</b>	0,868	0,283	0,686	0,819	0,998	0,150	0,414	0,426

Tabela 06. Leucograma de frangos de corte dos diferentes tratamentos, aos 14 dias de idade.

Grupos	Leucócitos Totais	Linfócitos	Heterófilos	Eosinófilos	Monócitos	Basófilos
	(/mm <sup>3</sup> )					
<b>Controle</b>	11200 $\pm$ 2167	8174 $\pm$ 2807	1920 $\pm$ 755	84 $\pm$ 86	878 $\pm$ 345	582 $\pm$ 515
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	13200 $\pm$ 3962	9860 $\pm$ 1944	2026 $\pm$ 1627	372 $\pm$ 259	444 $\pm$ 397	498 $\pm$ 224
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	11400 $\pm$ 1949	7736 $\pm$ 1216	1616 $\pm$ 752	282 $\pm$ 171	706 $\pm$ 731	622 $\pm$ 417
<b>P</b>	0,492	0,276	0,838	0,080	0,439	0,885

Tabela 07. Leucograma de frangos de corte dos diferentes tratamentos, aos 25 dias de idade.

Grupos	Leucócitos Totais	Linfócitos	Heterófilos	Eosinófilos	Monócitos	Basófilos
	(/mm <sup>3</sup> )					
<b>Controle</b>	9800 $\pm$ 2490	4770 $\pm$ 1218	3390 $\pm$ 857	316 $\pm$ 210	686 $\pm$ 708	638 $\pm$ 464
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	11800 $\pm$ 4086	5648 $\pm$ 1964	4020 $\pm$ 2135	408 $\pm$ 621	894 $\pm$ 379	830 $\pm$ 367
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	13000 $\pm$ 4743	6476 $\pm$ 2237	4586 $\pm$ 2001	386 $\pm$ 113	618 $\pm$ 82	934 $\pm$ 558
<b>P</b>	0,446	0,378	0,576	0,925	0,632	0,612

Nos parâmetros bioquímicos (TABELA 08), os níveis de globulina, obtido dos animais semanalmente, não apresentaram diferença significava entre os diferentes tratamentos.

Tabela 08. Níveis de globulina sérica de frangos de corte coletado semanalmente, 7, 14, 21 e 25 dias, nos diferentes tratamentos.

Grupos	GLOBULINA (g/dL)			
	7 dias	14 dias	21 dias	25 dias
<b>Controle</b>	1,3±0,3	1,19±0,4	2,5±0,4	2,1±0,2
<b>Selênio 0,2ppm</b>	1,45±0,3	1,21±0,46	2,8±0,4	2,2±0,3
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	1,3±0,1	1,25±0,28	2,2±0,7	1,8±0,2
<b>P</b>	0,659	0,969	0,334	0,09

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para os títulos vacinais das duas doenças virais estudadas (TABELAS 09 e 10), porém aos 21 dias de vida observou-se uma tendência em aumentar os títulos de anticorpos vacinais para Doença de Newcastle nas aves à medida que a concentração de selênio orgânico aumentava nas dietas.

Tabela 09. Titulação de anticorpos vacinais para Newcastle, através do teste de ELISA. Coletas de soro semanalmente, 7, 14 e 21 dias, nos frangos de corte dos diferentes tratamentos.

Grupos	7 dias	14 dias	21 dias
	Título (Log)		
<b>Controle</b>	2,8±0,9	2,4±0,2	2,3±0,5
<b>Selênio 0,2ppm</b>	2,9±0,5	2,6±0,4	2,5±0,9
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	3,2±0,5	2,3±0,5	2,9±0,3
<b>P</b>	0,650	0,772	0,406

Tabela 010. Titulação de anticorpos vacinais para Doença de Gumboro, através do teste de ELISA. Coletas de soro aos 7, 14 e 21 dias nos frangos de corte dos diferentes tratamentos.

Grupos	7 dias	14 dias	21 dias
	Título (Log)		
<b>Controle</b>	3,6±0,1	3,1±0,2	2,6±0,3
<b>Selênio 0,2ppm</b>	3,6±0,0	3,1±0,1	2,4±0,1
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	3,5±0,0	2,8±0,1	2,4±0,2
<b>P</b>	0,132	0,118	0,488

A titulação de anticorpos vacinais para Doença de Newcastle, procedente das análises de Inibição da Hemaglutinação, obtiveram resultados similares ao obtidos pelo método de ELISA, conforme mostra Tabela 11.

Tabela 11. Titulação de anticorpos vacinais para Newcastle, através do teste de ELISA e Inibição da Hemaglutinação. Coletas de soro aos 21 dias, nos frangos de corte aves dos diferentes tratamentos.

Grupos	Título Anticorpos (log)	
	ELISA	HI
Controle	2,3±0,5	2,4±0,2
Selênio a 0,2ppm	2,5±0,9	2,5±0,3
Selênio a 0,4 ppm	2,9±0,3	2,8±0,4
P	0,406	0,446

A presença dos aglomerados linfóides foi significativamente ( $P=0,002$ ) mais freqüente em fígados de aves suplementadas com selênio orgânico na dieta comparando com aves do grupo controle (TABELA 12).

Tabela 12. Quantidade de aglomerados linfóides presente no fígado de frangos de corte suplementados ou não com selênio orgânico na ração. Necropsia aos 21 e 25 dias.

	AGLOMERADOS LINFÓIDES	
	21 dias	25 dias
Controle	4,0 ± 2,2	2,6 ± 1,5 b
Selênio 0,2 ppm	3,0 ± 1,9	6,8 ± 1,7 a
Selênio 0,4 ppm	6,0 ± 3,6	6,4 ± 1,5 a
P	0,425	0,002

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

No duodeno, as medidas de altura de vilosidades e profundidade das criptas apresentaram diferença estatística ( $P<0,05$ ) nos animais dos diferentes tratamentos (TABELA 13). Os vilos mostraram-se maiores no tratamento controle, nas duas coletas, e foram diminuindo de tamanho com o aumento da concentração de selênio na dieta. Já as criptas, apresentaram esse perfil apenas na coleta realizada aos 21 dias de idade.

Tabela 13. Histologia do duodeno, mensuração das vilosidades e criptas, das necropsias realizadas aos 21 e 25 dias de vida dos frangos de corte.

Grupos	DUODENO			
	Vilosidades ( $\mu\text{m}$ )		Criptas ( $\mu\text{m}$ )	
	21 dias	25 dias	21 dias	25 dias
<b>Controle</b>	947,0 $\pm$ 219 a	1046,7 $\pm$ 140 a	122,3 $\pm$ 23 a	64,3 $\pm$ 15 b
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	847,3 $\pm$ 210 ab	989,3 $\pm$ 141 ab	115,6 $\pm$ 18 ab	58,5 $\pm$ 9 b
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	842,5 $\pm$ 218 b	949,8 $\pm$ 112 b	105,4 $\pm$ 13 b	74,6 $\pm$ 11 a
<b>P</b>	0,025	0,015	0,003	0,000

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

Nos cecos (TABELA 14), as medidas de altura de vilosidades e profundidade das criptas também apresentaram diferença estatística nos animais dos diferentes tratamentos, porém o quadro foi inverso. Isto é, os vilos apresentaram-se maiores nas dietas com maior concentração do mineral orgânico na ração. E nas criptas, a profundidade foi maior no tratamento 2, com baixas concentrações de selênio orgânico.

Tabela 14. Histologia do ceco, mensuração das vilosidades e criptas, das necropsias realizadas aos 21 e 25 dias de vida dos frangos de corte.

Grupos	CECO			
	Vilosidades ( $\mu\text{m}$ )		Criptas ( $\mu\text{m}$ )	
	21 dias	25 dias	21 dias	25 dias
<b>Controle</b>	131,1 $\pm$ 11 c	70,2 $\pm$ 28 b	70,5 $\pm$ 13	81,9 $\pm$ 17 ab
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	148,5 $\pm$ 15 b	112,1 $\pm$ 45 a	76,4 $\pm$ 14	91,2 $\pm$ 35 a
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	161,7 $\pm$ 27 a	113,8 $\pm$ 32 a	74,2 $\pm$ 15	74,0 $\pm$ 16 b
<b>P</b>	0,000	0,000	0,269	0,029

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

A quantidade de células positivas para CD3 (CD3<sup>+</sup>), sugestivas de serem linfócitos T, presentes no duodeno dos animais necropsiados apresentou diferença significativa (P=0,00) entre os diferentes tratamentos (FIGURA 08). As células CD3<sup>+</sup> apresentaram-se em maior quantidade nas dietas contendo mineral orgânico na ração. A quantidade dessas células de defesa foi proporcionalmente maior, quanto maior a concentração de selênio na dieta dos animais, demonstrada nas análises aos 25 dias de vida (TABELA 15).

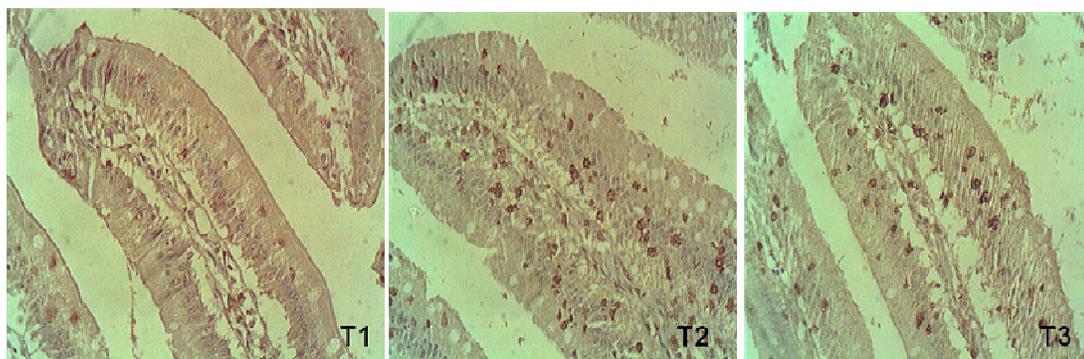
Nos cecos (TABELA 15), os resultados não apresentaram diferença significativa, apenas tendências em aumentar a quantidade de aglomerados linfóides em animais que consumiram selênio orgânico na dieta.

Tabela 15. Quantificação de células CD3<sup>+</sup> no duodeno e aglomerados linfóides nos cecos dos frangos de corte necropsiados aos 21 e 25 dias de vida, através da análise Imunohistoquímica.

IMUNOHISTOQUÍMICA				
Grupos	Duodeno		Cecos	
	21 dias	25 dias	21 dias	25 dias
<b>Controle</b>	15,1 ± 3,3 b	17,2 ± 3,6 b	1,6 ± 0,5	1,8 ± 0,8
<b>Selênio 0,2 ppm</b>	23,0 ± 4,9 a	21,5 ± 5,7 b	2,8 ± 0,8	2,6 ± 0,5
<b>Selênio 0,4 ppm</b>	21,0 ± 3,4 a	30,6 ± 3,6 a	2,2 ± 0,8	2,0 ± 0,7
<b>P</b>	0,002	0,000	0,078	0,218

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa.

Figura 08. Fotomicrografia de duodenos de frangos de corte com 21 dias de idade, comparando os intestinos dos diferentes tratamentos (T1- controle; T2- 0,2ppm Se; T3- 0,4ppm Se) em relação a quantidade de células CD3<sup>+</sup> presentes na mucosa intra-epitelial (Imunohistoquímica, 40x).



## DISCUSSÃO

Em relação aos índices zootécnicos, especificamente ao ganho de peso, a suplementação de selênio orgânico em frangos de corte não apresentou diferença significativa no resultado final. Entretanto, na fase entre os 14 e 21 dias de vida, onde as aves foram submetidas a desafios com vaciniais virais e coccidiose, esses índices foram representativos nos animais, proporcionalmente com aumento de concentração do mineral na dieta. Isso sugere que em fases de homeostase, a quantidade de selênio presente na dieta base é suficiente para bom desempenho dos animais, porém em condições de estresse ou resposta inflamatória o organismo requer maior quantidade de

nutrientes para suprir as necessidades. KOUTSOS e KLASING (2001) afirmam que, uma vez ativado, o sistema imune é um ávido consumidor de nutrientes e recursos orgânicos. Segundo, experimentos realizados por RUTZ *et al.* (2003) e por ANCIUTI *et al.*, (2004), a inclusão de selênio orgânico na dieta de frangos de corte também apresentaram aumento no ganho de peso dos animais.

Nos resultados obtidos dos parâmetros morfométricos do intestino, a altura das vilosidades no duodeno apresentou significativamente menor nos animais suplementados com selênio orgânico que no grupo controle, sendo que a profundidade das criptas apresentou-se menor aos 21 dias e maior aos 25 dias quando comparada daquelas do grupo controle. Segundo MAIORKA *et al.* (2003), animais com maior renovação celular da mucosa intestinal possuem maior profundidade de cripta, em virtude da hiperplasia, resultado da alta atividade mitótica. Porém, quando ocorre um aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, há um aumento no número de células e, conseqüentemente, um aumento na altura dos vilos, sendo o contrário também verdadeiro (MAIORKA *et al.*, 2002). SANTIN *et al.* (2001) sugerem ainda, que a altura de vilosidade esta diretamente relacionada a maior capacidade de absorção e digestão de nutrientes e melhor desenvolvimento dos animais. Com os resultados do presente estudo, entretanto, pode-se adicionar ainda a essa afirmação que mais importante que se correlacionar diretamente o tamanho das vilosidades com maior capacidade de absorção, é importante considerar a natureza das células presentes em todas as camadas dessas vilosidades (mucosa e submucosa). Uma vez que, neste estudo, o resultado também pode estar relacionado a maior presença de células CD3<sup>+</sup> observada na mucosa duodenal nos animais suplementados com selênio orgânico. A quantidade de células positivas para CD3 (CD3<sup>+</sup>) é sugestiva de serem linfócitos T, pois os linfócitos apresentam moléculas expressas na sua superfície denominadas determinantes celulares (CD). O CD3 é expresso por todos os linfócitos em sua origem e permanecem durante a vida toda das células, sendo antígeno de superfície em comum dos linfócitos T (BARUA e YOSHIMURA, 2004)

O acúmulo de células imunes na submucosa pode alterar a morfologia das vilosidades, de maneira que só a altura da vilosidade *per se* pode não estar diretamente relacionada à maior absorção de nutrientes. Foi verificado ainda, que as aves suplementadas com Se orgânico também apresentaram menor índice de severidade de

lesões e alimento não digerido no íleo que as aves do grupo controle, podendo-se especular que, a maior quantidade de células CD3<sup>+</sup> pode ter protegido a mucosa intestinal do duodeno, o que também estaria relacionado a melhor capacidade de absorção de nutrientes.

Estudos têm demonstrado que o selênio influencia na função das células fagocitárias e linfocíticas (SURAI, 2002; RAYMAN, 2000). De acordo com LENG *et al.* (2003) o selênio melhora o status imune dos frangos com aumento da capacidade imunocompetente das células de defesa para responder a estímulos antigênicos. Essa correlação positiva entre quantidade de células imunes no trato gastrointestinal e dosagem de selênio orgânico suplementado na dieta também foram observadas por LENG *et al.* (2003) e ARTHUR *et al.*, (2003) em frangos de corte, e em outras espécies animal, respectivamente. LENG *et al.* (2003) notaram em seus estudos correlação entre doses de selênio orgânico e a expressão dos linfócitos T CD8, CD4 e CD3, através de análise imunohistoquímica no duodeno, bursa de Fabricius e no baço, respectivamente. ARTHUR *et al.* (2003) detectaram que ratos com deficiência de selênio apresentaram linfócitos com menor capacidade de proliferação, e conseqüentemente, prejudicando os macrófagos, células T e B. Aqueles estudos sugeriram que esse efeito se deve a ação antioxidante que o selênio representa na resposta imunológica. Ou seja, as células imunes, como heterófilos e macrófagos, produzem radicais livres no processo de fagocitose. Entretanto, ao escaparem dos fagossomos, estes mesmos radicais livres tornam-se perigosos e podem danificar moléculas biológicas, inclusive a função dos fagócitos e conseqüentemente a resposta imune adaptativa, com redução da produção de citocinas, proliferação de linfócitos e anticorpos, comprometendo a imunocompetência do animal na falta de selênio (KARADAS e SURAI, 2004).

Existem vários estudos demonstrando a relação do selênio com sistema imunológico. Entretanto, quando se avalia essa influência através de níveis hematológicos e sorológicos a relação não apresenta-se tão explícita. No presente estudo, a suplementação com selênio orgânico na dieta não interferiu significativamente na titulação de anticorpos vacinais, somente apresentou uma tendência em aumentar a titulação com a suplementação desse mineral na dieta. O mesmo foi observado no experimento de KINDLEIN *et al.* (2007), onde aves poedeiras leves suplementadas com 0,3 ppm de selênio e vacinadas contra *Escherichia coli* e encefalomielite aviária não apresentaram diferença na titulação de anticorpos em relação aos grupos não

suplementados com o mineral. Da mesma forma, em relação aos parâmetros sanguíneos, o mesmo foi observado por DAZA *et al.* (2000) em leitões, onde os animais suplementados com selênio (0,3 ppm) apresentaram parâmetros hematológicos dentro dos valores normais sem diferença significativa com grupo controle. Devido a esse cenário, esses parâmetros podem não serem adequados para analisar a influência desse mineral na resposta imunológica dos animais.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As aves suplementadas com selênio orgânico apresentaram maior número de células CD3<sup>+</sup> no duodeno e menor severidade de lesões intestinais quando comparadas às aves do grupo controle. O selênio orgânico influenciou positivamente no ganho de peso destes animais quando as aves foram desafiadas com vacinas virais e coccidiose.

Isso sugere que em fases de homeostase, a quantidade de selênio presente na dieta base pode ser suficiente para bom desempenho dos animais, porém em condições de estresse e, principalmente, com desafios antigênicos o organismo requer maior quantidade de nutrientes para suprir as necessidades do processo inflamatório.

## REFERÊNCIAS

ANCIUTI, M.A., RUTZ, F., SILVA, L.A., COSENZA, R.C., SILVA, R.G. Effect of replacement of dietary inorganic by organic selenium (Sel-Plex®) on the performance of broilers. Proceedings, 20 th Annual Symposium of Biotechnology in the Feed Industry (Suppl.1), Lexington, KY, EUA. p. 14. 2004.

ARTHUR, J.R., MCKENZIE, R.C and BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. Journal Nutrition. 133:1457S-1459S. 2003.

BARUA, A., YOSHIMURA, Y. Ovarian cell-mediated immune response to *Salmonella* Enteritidis infection in laying hens (*Gallus domesticus*). Poultry Science, 83:997-1002, 2004.

DAZA, A., SALADO, S., GÁLVEZ, J.F., GUTIÉRREZ-BARQUÍN, M. Efecto de la suplementación con vitamina E y Selenio sobre el sistema inmune, parámetros hematológicos y parámetros productivos de lechones recién destetados. Departamento del Producción Animal. E.T.S. de Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria, Madrid. vol. 15 (1-2), 2000.

KARADAS, F., SURAI, P.F. *Interações entre selênio e vitamina E: será que 1+1 é igual a mais 2?* In: Anais do Simpósio Brasileiro Alltech: Re-imaginando a indústria de alimentação animal. Biotecnologia Nutricional na Indústria de Alimentação Animal. Editado por Andrea Malaguido e Fernando Rutz. p. 57-69. 2004.

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

KINDLEIN, G., RIBEIRO, A.M.L., CANAL, C.W. and VIEIRA, M.M. Feeding different levels of vitamin E and selenium has no effect on serum immunoglobulin Y (IgY) production by layers vaccinated against *Escherichia coli* and avian encephalomyelitis virus. *Ciência Rural*, v. 37, n. 5, pp. 1374-1379. 2007.

LENG, L., R. BOBZEK, S. KURIKOVÁ, K. BOLDIZÁROVÁ, L. GREŠÁKOVÁ, Z. ŠEVCÍKOVÁ, V. RÉVAJOVÁ, LEVKUTOVÁ, M., LEVKUT, M. Comparative metabolic and immune responses of chickens fed diets containing inorganic selenium and Sel-Plex™ organic selenium. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry, Proceedings of Alltech's 19th Annual Symposium* (K.A. Jacques and T.P. Lyons, eds). Nottingham University Press, UK, p. 131-145. 2003.

KOUTSOS, E.A., KLASING, K.C. Interactions between the immune system, nutrition and productivity of animals. In: *Recent Advances in Animal Nutrition 2001*, Nottingham Press, p.173-190, 2001.

MAIORKA, A., SILVA, A.V.F., SANTIN, E., BORGES, S.A., BOLELI, I.C., MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Belo Horizonte. vol.52, n.5, 2000.

MAIORKA, A., BOLELI, I.C, MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari, M. *et al.* Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep. p.172. 2002.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; DAHLKE, F. et al. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *Journal Applied Poultry Research*, v.12, p.483-492, 2003.

NRC - National Research Council, Nutrient requirements of poultry, Washington: National Academy Press, 9th revised ed., 1994.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; GRECCO, M.; SANCHEZ, J.C.; OKADA, T.M.; MYASAKA, A.M. Performance and Intestinal Mucosa Development in Broiler Chickens Fed diets Containing *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall. *Journal of Applied Poultry Research*, v.10, p.236-244, 2001.

SURAI, P.F. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: *Biotechnology in the Feed industry. Proceedings of Alltech's 16<sup>th</sup> Annual Symposium* (T.P. Lyons and K.A. Jacques, eds) Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 205-260. 2000.

SURAI, P.F. Natural antioxidants in Avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press, Nottingham. 2002.

RAYMAN, M.G. The importance of selenium to human health. *LANCET*, vol. 356, pp. 233-241, 2000.

RUTZ, F., PAN, E.A., XAVIER, G.B., ANCIUTI, M.A. Effect of replacement of dietary inorganic by organic selenium (Sel-Plex®) on the performance of broilers. In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*. Proceedings of Alltech's 19 th Annual Symposium (T.P. Lyons and K.A.Jacques, eds), Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp.147-161. 2003.

RUTZ, F., ANCIUTI, M.A., RECH, J.L., ROSSI, P. *Impacto dos minerais orgânicos sobre o desempenho animal*. In: *Anais do Simpósio Brasileiro Alltech: Re-imaginando a indústria de alimentação animal*. Biotecnologia Nutricional na Indústria de Alimentação Animal. Editado por Andrea Malaguido e Fernando Rutz. p. 74-82. 2004.

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

O selênio é um mineral essencial para saúde animal, apresentando importante papel no organismo animal, principalmente na resposta imunológica. Devido a sua importância, esse nutriente é essencial na dieta animal, presente nas fórmulas padronizadas em tabelas internacionalmente conhecidas (*National Research Council*), porém, nem sempre encontrado em quantidade adequada para atender as necessidades orgânicas dos animais.

No presente estudo, a suplementação de selênio orgânico em dieta contendo níveis de Se recomendados pelo NRC (1994) melhorou a resposta imune na mucosa intestinal de frangos de corte, quando esses animais foram vacinados com antígenos virais e parasitários. Isso sugere que em fases de homeostase, a quantidade de selênio presente na dieta base pode ser suficiente para bom desempenho dos animais, porém em condições de estresse e, principalmente, com desafios antigênicos o organismo requer maior quantidade de nutrientes para suprir as necessidades do processo inflamatório.

Frente a isso, recomenda-se constante estudo sobre as formas e níveis adequados de nutrientes na dieta animal, principalmente, de minerais e vitamínicos, para maximizar a eficiência do sistema imunológico animal, proporcionando maior resistência a stress e doenças, com melhor desempenho produtivo e reprodutivo dos animais.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)