

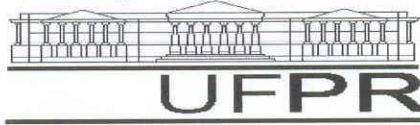
PEDRO HENRIQUE DOCKHORN TOMASI

**AVALIAÇÃO DE VACINAS CONTRA COCCIDIOSE E A UTILIZAÇÃO DE
PEPTÍDEOS EM FRANGOS DE CORTE**

**Dissertação apresentada ao Curso
de Pós Graduação em Ciências
Veterinárias como requisito para
obtenção de título de Mestre, Setor
de Ciências Agrárias, Universidade
Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. José Luciano
Andriguetto.**

**CURITIBA
MARÇO, 2006**




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal **PEDRO HENRIQUE DOCKHORN TOMASI** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Dissertação, intitulada “**AVALIAÇÃO DE VACINAS CONTRA COCCIDIOSE E A UTILIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS EM FRANGOS DE CORTE**” foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato apresentou-se muito bem durante a Defesa da Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 – CEPE considerou o candidato APROVADO concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal.

Curitiba, 29 de março de 2006.


Prof. Dr. José Luciano Andriguetto
Presidente/Orientador


Prof. Dr. Alex Maiorka
Membro


Prof. Dr. Sérgio Luiz Vieira
Membro

... à minha Regina, meus pais e meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

- aos Srs. Jurandir de Mattos, Dilvo Grolli e Prof. Putini, pelo apoio e oportunidade da realização deste trabalho;
- ao Prof. J. Luciano Andriguetto, pela orientação e paciência;
- aos membros da banca, Professores Alex Maiorka e Sérgio L. Vieira, pelos aconselhamentos;
- aos colegas que ajudaram diretamente na execução do trabalho: Franco Vigne, José Rodrigo Galli Franco, Vladimir Miolo, David Troian e Fábio Graad;
- às empresas que viabilizaram economicamente este trabalho: Coopavel Cooperativa Agroindustrial, Novartis Saúde Animal, Nuvital Nutrientes S/A e Schering-Plough Saúde Animal Brasil.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	VII
RESUMO.....	VIII
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 O problema: vacinação contra coccidiose.....	3
2.1.1 Vacinas vivas atenuadas	5
2.1.2 Vacinas de sub-unidades contra coccidiose	6
2.2 Resposta imunológica contra coccidiose.....	6
2.3 Qualidade intestinal e desempenho das aves	8
2.3.1 Importância dos peptídeos na dieta	9
2.4 Sobre o DPS.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Das aves utilizadas e tratamentos	13
3.2 Instalações experimentais.....	14
3.3 Manejo das aves.....	15
3.4 Delineamento experimental.....	17
3.5 Dados avaliados	17
3.5.1 Desempenho zootécnico	17
3.5.2 Avaliações laboratoriais	17
3.5.2.1 Sorologia para coccidiose	18
3.5.2.2 Morfologia intestinal	18
3.5.2.3 Contagem de oocistos na cama.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Contagem de oocistos na cama.....	20
4.2 Sorologia.....	21
4.3 Morfometria intestinal	22
4.3.1 Resultados da morfometria aos sete dias.....	23
4.3.2 Resultados da morfometria aos 14 dias.....	23

4.3.3 Resultados da morfometria aos 21 dias.....	24
4.4 Desempenho zootécnico	32
5 CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparativo de peso vivo de aves (g) tratadas com antibióticos e ionóforos (frango convencional) e de aves criadas sem aditivos químicos e vacinadas contra coccidiose (frango natural)	6
Tabela 2 - Composição nutricional proximal do DPS	12
Tabela 3 – Composição das dietas (‰) de acordo com as fases de criação de aves vacinadas contra coccidiose (Paracox ou Coxabic) e que receberam ou não o DPS	16
Tabela 4 - Contagem de oocistos na cama de frangos de corte criados com dois tipos de vacinas e com ou sem DPS (oocistos / g de cama).....	20
Tabela 5 – Resultados da sorologia contra coccidiose aos 4, 7, 14, 21 e 28 dias de aves vacinadas contra coccidiose com Coxabic ou Paracox e que receberam ou não o DPS.....	21
Tabela 6 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (µm) aos sete dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS	26
Tabela 7 - Comparação do tamanho dos vilos (µm) do duodeno dentro da interação vacina x peptídeos aos 7 dias de idade	26
Tabela 8 - Comparação da relação vilos:cripta do duodeno dentro da interação vacina x peptídeos aos 7 dias de idade.....	26
Tabela 9 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (µm) aos 14 dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS.....	27
Tabela 10 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (µm) aos 21 dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS.....	27
Tabela 11 - Comparação da profundidade das criptas (µm) do jejuno dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade.....	28
Tabela 12 - Comparação da relação vilos:cripta do jejuno dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade.....	28
Tabela 13 - Comparação do tamanho dos vilos (µm) do íleo dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade	28
Tabela 14 - Resultado zootécnico de aves tratadas ou não com DPS e vacinadas contra coccidiose (Coxabic ou Paracox)	33

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a utilização de duas diferentes vacinas contra a coccidiose e a utilização de peptídeos como agentes tróficos, melhoradores da condição intestinal das aves. Foi utilizado um delineamento totalmente casualizado, com um delineamento fatorial 2 x 2 (dois tipos de vacinas e a utilização ou não dos peptídeos até os 21 dias de idade). O tratamento 1 (T1) consistiu na vacinação das aves com Paracox[®] (Schering-Plough) no incubatório e o fornecimento de 2% DPS[®] (Nutraflo), como fonte de peptídeos, até os 21 dias de idade. O tratamento 2 (T2) foi idêntico ao T1, porém sem o fornecimento do DPS. No tratamento 3 (T3), as aves foram imunizadas passivamente com a utilização da vacina Coxabic[®] (Abic) nas matrizes e receberam 2% de DPS até os 21 dias de idade. O tratamento 4 (T4) recebeu a mesma vacina de T3, porém não receberam o DPS. A análise fatorial mostrou que ambas as vacinas foram eficazes no controle da coccidiose. A vacinação com Paracox causou uma maior agressão ao epitélio intestinal, se comparada com a utilização da Coxabic. A utilização do DPS melhorou os parâmetros intestinais, proporcionando uma maior altura dos vilos e uma menor profundidade das criptas. Por fim, ambas as vacinas produziram o mesmo peso aos 45 dias de idade e a mesma conversão alimentar, sendo que a utilização do DPS melhorou estes fatores zootécnicos.

ABSTRACT

The aim of this work was evaluate two different types of coccidiosis vaccine and a source of peptides as a trophic agent, which improves the intestinal condition of the broilers. A completely random design and a factorial 2 x 2 (two vaccine types and the use or not of peptides until 21 days of age) design were used. Treatment 1 (T1) was the use of Paracox[®] (Schering-Plough) vaccine and the use of DPS[®] (Nutraflo), as peptides source, until 21 days of age. Treatment 2 (T2) was the same of T1, but without the use of DPS. In treatment 3 (T3), the birds were immunized passively with the utilization of Coxabic[®] (Abic) vaccine in the breeders and received 2% of DPS until 21 days of age. Treatment 4 (T4) received the same vaccine of T3, but did not receive DPS. The factorial analysis showed that both vaccines were effective in controlling coccidiosis. The vaccination with Paracox caused a bigger destruction of the intestinal epithelium, in comparison with the use of Coxabic. The use of DPS improved the intestinal parameters, providing a bigger villus height and decreasing the depth of crypt. Both vaccines produced the same weight at 45 days of age and the same feed conversion, and the use of DPS improved these production factors.

INTRODUÇÃO

A necessidade de aumentar a produtividade das culturas fez com que, no caso da avicultura, as aves fossem confinadas e criadas em sistemas intensivos. Isto, por sua vez, leva a um aumento na pressão de infecção por parte dos microorganismos patogênicos. Bactérias e protozoários passaram a ter, então, uma importância muito grande nestas criações, sendo que o controle foi, por muito tempo, feito com a utilização de produtos químicos (antibióticos).

Por outro lado, com a ocorrência de vários problemas de contaminações em alimentos, a população mundial tem, cada vez mais, exigido uma maior segurança com relação aos produtos que a indústria fornece ao mercado. Objetivando-se diminuir os riscos da presença dos resíduos de antibióticos nas carnes, vários países têm proibido a utilização destes na nutrição dos animais. A partir de janeiro de 2006, todos os antibióticos promotores de crescimento tiveram o seu uso proibido em toda a comunidade europeia e, em maio deste mesmo ano, no Japão, será adotado um sistema de análise dos produtos cárneos importados, para certificar que estes não apresentem resíduos maiores que os permitidos pelo ministério japonês.

Pensando-se no controle da coccidiose, uma enfermidade que acomete os plantéis de aves em todo o mundo, a alternativa aos anticoccidianos (químicos ou ionóforos) é a utilização de vacinas, que tornam os animais aptos a resistirem aos desafios de campo. A história da vacinação contra coccidiose teve seu início na década de 1950, com a utilização de vacinas vivas nas aves. Apesar de serem funcionais no controle da coccidiose, as vacinas vivas apresentam o inconveniente de causarem lesões no epitélio intestinal, devido ao mecanismo de geração de imunidade contra a coccidiose.

Na prática, a indústria tem utilizado as vacinas com algumas restrições - devido justamente a esse fator de lesão intestinal, com maior ou menor sucesso, dependendo da empresa que a utiliza. Devido a esses inconvenientes, iniciou-se a pesquisa com a utilização de anticorpos contra a coccidiose que, posteriormente, culminou com o desenvolvimento de uma vacina aplicada nas matrizes de corte, tornando-as aptas a gerar e transmitir a imunidade à sua progênie.

Entendendo o cenário de que a qualidade do epitélio intestinal é de fundamental importância para a boa performance na criação de aves, a utilização de produtos com digestibilidade elevada e que, ainda, melhoram a condição intestinal pode ser uma alternativa a ser utilizada na avicultura. Dentre os produtos que podem ser úteis nessa linha, a utilização de um composto protéico à base de peptídeos tem ganhado importância.

O objetivo deste trabalho é avaliar dois conceitos de vacinação contra coccidiose, utilizando-se uma vacina a base de oocistos vivos atenuados nos pintinhos (Paracox[®] - Schering-Plough) ou uma vacina a base de sub-unidades, aplicada nas matrizes (Coxabic[®] - ABIC) no que tange a proteção contra coccidiose, além de avaliar o grau de extensão das lesões causadas pelas vacinas. Por fim, considerando que a utilização de peptídeos pode ser interessante como um agente trófico nos casos onde ocorra algum dano no epitélio intestinal, avaliou-se a utilização do DPS[®] (Nutraflo), uma fonte de peptídeos extraídos do intestino delgado de suínos, na manutenção do epitélio intestinal e, por consequência, na melhora do desempenho do frango vacinado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O problema: vacinação contra coccidiose

A utilização de aditivos químicos na avicultura atual tem trazido um grande benefício econômico para toda a cadeia. Desde a descoberta do primeiro antibiótico na metade do século passado, a utilização destes com o objetivo de se controlar o crescimento bacteriano e, assim, melhorar o desempenho das aves tem mostrado benefícios efetivos. A publicação de estudos mostrando que algumas dessas moléculas utilizadas poderiam afetar a saúde humana, no final da última década, fez com que a utilização de antibióticos fosse repensada, chegando-se a proibição total de sua utilização em uso contínuo na Europa, a partir do início de 2006.

A coccidiose é uma doença intestinal causada por protozoários do gênero *Eimeria* que provoca grandes prejuízos para a avicultura industrial. Além do custo com a prevenção da doença, esta traz uma diminuição no resultado devido a piora da performance das aves. Como exemplo, pode-se citar o fato de uma infecção de coccidiose levar a uma diminuição na energia metabolizável e na digestibilidade dos aminoácidos de uma dieta (PERSIA et al., 2006).

Aditivos vêm também sendo utilizados no controle da coccidiose, tais como os ionóforos e os anticoccidianos químicos. Apesar de terem sua utilização permitida até 2014, com chances de poderem ser utilizados por um período ainda maior, o mercado consumidor de carne de aves tem mostrado alguma resistência com relação à utilização desses ionóforos ou compostos químicos na criação das aves.

A indústria, por sua vez, tem buscado atender esse novo mercado, que exige a produção de aves sem a utilização de aditivos químicos. No controle da coccidiose, as alternativas disponíveis no mercado são as vacinas vivas virulentas e as atenuadas (KAWAZOE, 2000).

A utilização destas vacinas traz consigo alguns efeitos indesejáveis. Para produzir imunidade nas aves, faz-se necessário que os parasitas completem seu ciclo de vida, que se inicia com a ingestão de um oocisto esporulado. Deste, originam-se oito esporozoítos, que penetram nas vilosidades intestinais e, uma vez dentro dos enterócitos, reproduzem-se assexuadamente, resultando em merozoítos.

Os merozoítos rompem as células do hospedeiro e buscam invadir outras células, em um ciclo conhecido como merogonia. Após alguns desses ciclos, os merozoítos diferenciam-se em microgametas (machos) e macrogametas (fêmeas), que se fecundam formando novos oocistos que são eliminados pelas fezes (ALLEN & FETTERER, 2002). JEURISSEN et al. (1996) citado por MORRIS (2002) mostraram que os parasitas estariam sujeitos ao sistema imune do hospedeiro em três fases distintas de seu desenvolvimento:

- a) durante o período em que o esporozoíto deixa o oocisto e penetra na célula do hospedeiro;
- b) dentro do epitélio do hospedeiro, permanecendo exposto aos linfócitos intra-epiteliais;
- c) durante o transporte do esporozoíto do enterócito de superfície, através da lâmina própria e até a cripta do epitélio.

Ao realizar esse ciclo, tanto as *Eimerias* virulentas quanto as vacinais acabam por lesar a mucosa intestinal. MORRIS et al. (2004), trabalhando com duas linhagens distintas, conduziram dois experimentos avaliando a resposta em ganho de peso, escore de lesão e morfologia intestinal de aves desafiadas com duas cepas distintas de *Eimeria acervulina*. As aves foram desafiadas aos 14 e 15 dias, respectivamente, sendo pesadas e sacrificadas para análise do intestino seis dias depois do desafio. No primeiro experimento, os autores não encontraram diferenças em ganho de peso das aves desafiadas, mas encontraram uma condição da mucosa intestinal pior nas aves que receberam a primeira cepa de *Eimerias*.

No segundo experimento, os autores repetiram os desafios, porém com dosagens maiores de *Eimeria*, e concluíram que houve diferença entre os isolados de *Eimeria* com relação ao ganho de peso e demais variáveis avaliadas, mostrando que a interferência da coccidiose no desempenho e nos parâmetros intestinais de frangos de corte depende da cepa e da pressão de infecção das *Eimerias*. HOERR (1998) relata que vários são os agentes infecciosos capazes de causar uma necrose nos enterócitos, sendo que as espécies de *Eimeria* seriam algumas das principais.

2.1.1 Vacinas vivas atenuadas

As vacinas contra coccidiose atualmente disponíveis no mercado são compostas de oocistos vivos (atenuados ou não) de várias espécies de Eimerias, sendo que devem ser utilizadas dentro da primeira semana de vida das aves. A vantagem das vacinas atenuadas em relação às vacinas feitas com cepas virulentas é que as vacinas vivas atenuadas apresentam um potencial reprodutivo muito menor, fazendo com que o número de esporozoítos que penetram nas células do hospedeiro seja menor, levando a um desenvolvimento ótimo da imunidade com uma menor lesão do epitélio intestinal (WILLIAMS, 1994).

Após a vacinação, a imunidade é estimulada inicialmente pelo desenvolvimento do ciclo de vida das cepas vacinais. Esse efeito é mantido e ampliado pela reinfecção sucessiva tanto de oocistos vacinais que foram excretados pelas fezes, bem como por oocistos virulentos presentes no ambiente (WILLIAMS, 2000).

Como pode ser visto, independente do tipo de vacina viva utilizada, para que ocorra o processo de produção de imunidade contra coccidiose, faz-se necessário que esses protozoários completem alguns ciclos, gerando com isso um processo inflamatório nos enterócitos. Assim, juntamente com a proteção contra as Eimerias, a utilização de vacinas vivas teria como efeito indesejável o fato de levar a destruição do epitélio intestinal – este é o fenômeno conhecido como reação vacinal.

McCarter (Boletim Técnico) utilizando aves da linhagem Ross, mostrou que as aves vacinadas apresentaram um desempenho semelhante aos 49 dias àquelas que receberam ionóforo (salinomicina). Porém, aos 21 dias, as aves vacinadas mostraram uma maior conversão alimentar e um menor ganho de peso. Isso mostra, segundo o autor, que as aves vacinadas contra coccidiose apresentariam um ganho de peso “compensatório”.

Esses resultados, onde se observa uma recuperação do peso das aves dos 21 dias até a idade de abate, não são, entretanto, observados pela indústria que vacina suas aves, provavelmente devido à interferência de outros fatores ambientais ou agentes patogênicos presentes nas criações comerciais. A avaliação de dados de desempenho de aves criadas industrialmente, sem a utilização de antibióticos

promotores de crescimento ou anticoccidianos, mostra que, após passarem pelo período de reação vacinal, os frangos vacinados não recuperam mais o peso e, portanto, não apresentam tal ganho “compensatório” (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparativo de peso vivo de aves (g) tratadas com antibióticos e ionóforos (frango convencional) e de aves criadas sem aditivos químicos e vacinadas contra coccidiose (frango natural)

	Idade das aves (dias)				
	7	14	21	28	35
Frango convencional	168,30 ^a	420,80 ^a	817,90 ^a	1280,60 ^a	1830,90 ^a
Frango natural	161,80 ^b	387,90 ^b	775,30 ^b	1226,20 ^b	1764,50 ^b

Fonte: dados retirados do Manual de Resultado COOPAVEL. Julho 2005.

2.1.2 Vacinas de sub-unidades contra coccidiose

Um novo conceito em vacinação contra coccidiose que tem sido pesquisado nos últimos anos é a utilização de vacinas a base de subunidades recombinantes. Atualmente no mercado, existe uma vacina que se utiliza deste princípio. O produto é um composto de antígenos isolados e purificados, sendo subunidades da parede celular de gametócito de *E. máxima*, com 56, 82 e 230 kDa. Essa vacina deve ser aplicada nas matrizes, por via intramuscular e em duas doses, às 14 e 18 semanas de idade. Dessa forma, as matrizes imunizadas seriam capazes de produzir anticorpos contra todas as espécies de Eimerias das aves, visto que as proteínas utilizadas seriam comuns a todas as espécies. O objetivo da vacina é proteger as aves através dos anticorpos maternos até que estas se tornem imunes ativamente (SMITH, 1994b).

2.2 Resposta imunológica contra coccidiose

A resposta imunológica gerada pela infecção das várias espécies de Eimerias é altamente específica e protege apenas contra o desafio de parasitas homólogos (SMITH, 2000; WILLIAMS, 1998). A imunidade não previne que o esporozoítio invada a célula do hospedeiro, mas sim o seu desenvolvimento dentro da célula (ALLEN & FETTERER, 2002).

ROSE & HESKETH (1979) trabalharam com animais com deficiências funcionais nos linfócitos T e B, concluindo que a imunidade contra coccidiose é dependente dos linfócitos T (imunidade celular) e que os linfócitos B (imunidade humoral) não interferem na resposta imunológica. MIN et al. (2004) citaram que sempre que existe uma infecção por *Eimeria*, há um aumento na produção de anticorpos específicos que, por sua vez, possuem uma habilidade mínima para prevenir a infecção por coccidiose. Com base neste tipo de informação, postulou-se que a transferência da imunidade passiva, através de anticorpos maternos, não é um meio eficiente para se proteger uma ave contra coccidiose. ALLEN & FETTERER (2002), em pesquisa mais recente com ratos geneticamente modificados, relatam que os linfócitos B tem uma participação menor com relação à formação da imunidade, mas que são indispensáveis.

A produção de vacinas contra coccidiose, que são patógenos considerados antigenicamente complexos, teria mais sucesso com a utilização de patógenos vivos ou atenuados (SMITH, 2000). O autor afirma ainda que outras formas de imunização são dificultadas pela complexidade de identificar os antígenos capazes de gerar proteção contra estes patógenos complexos, ainda mais em se tratando de *Eimerias* que geram um grande número de moléculas que são imunogênicas, mas não são protetoras. O conhecimento do ciclo de vida das *Eimerias* e o desenvolvimento de antígenos que produzem imunidade específica são duas etapas críticas no desenvolvimento de vacinas recombinantes (MIN et al., 2004).

WALLACH et al. (1990) pesquisaram a utilização de dois antígenos em aves, com 56 e 82 kDa e concluíram que estes antígenos são capazes de imunizar passivamente os animais. Ainda, mostraram que os antígenos de gametócitos são importantes no processo de proteção das aves e que os anticorpos são capazes de alcançar a mucosa intestinal e comprometer o desenvolvimento do parasita.

WALLACH (2000) mostrou em seus estudos que ao se imunizar uma matriz, esta seria capaz de transmitir essa imunidade a sua progênie. O autor comenta ainda que, além de conseguir uma imunização de 100% de proteção, a imunidade permanecia por longos períodos de tempo, tanto nas matrizes como em sua progênie.

SMITH et al. (1994a) mostrou que a infecção de matrizes com oocistos de *Eimeria* leva a produção anticorpos e a posterior passagem destes anticorpos para a progênie através da gema. Esses níveis de anticorpos, porém, reduziram drasticamente com o passar do tempo (7 – 8 semanas). Em um segundo experimento, os pesquisadores injetaram por via intramuscular os antígenos contra coccidiose e conseguiram um efeito mais duradouro da resposta imunológica. Em ambos os testes, foi observada uma redução significativa na excreção de oocistos pela progênie.

Independente do processo de imunização utilizado, o processo de combate aos parasitas por parte dos hospedeiros é diferente de acordo com a fase que este se encontra (KAWAZOE, 2000). Nas fases extracelulares, os parasitas ficam sujeitos a ação dos fluídos extracelulares, tais como os anticorpos, complemento, mediadores inflamatórios e citocinas. Quando dentro das células, os únicos mecanismos capazes de afetar o desenvolvimento das eimerias são os intracelulares, como as enzimas lisossomais ou a própria destruição das células hospedeiras infectadas através de uma atividade citotóxica.

2.3 Qualidade intestinal e desempenho das aves

A avicultura de corte baseia-se, atualmente, na eficiência do ganho de peso e na conversão alimentar das aves. Assim, a atividade pode ou não ser economicamente interessante, caso esses parâmetros sejam alterados. Vários são os fatores capazes de interferir na eficiência produtiva das aves, sendo que um dos principais é a integridade do sistema digestório das mesmas.

Três são os tipos de células intestinais que são responsáveis pela defesa do epitélio e digestão e absorção dos nutrientes da luz intestinal, as células calciformes, os enterócitos e as células enteroendócrinas (BOLELI et al., 2002). Essas células são agrupadas de modo a formar as vilosidades. Na avicultura moderna é comum que esse equilíbrio seja rompido devido a agentes patogênicos e, entre eles, aqueles causadores da coccidiose são muito citados na literatura (WALLACH, 2000).

MAIORKA et al. (2002), resumiram toda essa problemática em sua introdução, como segue:

A manutenção da sanidade das aves, em especial a doenças ou agentes que atuam sobre o trato gastrointestinal, é de grande importância para a produção de frangos, pois essa é a via de entrada dos nutrientes para o desenvolvimento da ave. Considerando que a ração representa de 70% a 80% dos custos de produção, a integridade dos mecanismos digestivos e absorptivos dos nutrientes no trato digestório, ou seja, a integridade das células epiteliais da mucosa gastrointestinal é de vital relevância para o bom desempenho das aves.

A necrose dos enterócitos nas vilosidades tem um impacto imediato na digestão e absorção dos nutrientes (HOERR, 1998). Após a morte de uma célula, ela é substituída por outra recentemente dividida. Essas células são imaturas e incapazes de desempenhar todas as funções de uma célula totalmente diferenciada e especializada. A capacidade de desempenhar essas funções é adquirida com o passar do tempo, onde as células jovens sofrem as diferenciações e especializações.

Estudos mostram que a simples manutenção da mucosa intestinal tem um grande demanda energética, podendo consumir até mais de 20% de toda a energia bruta ingerida pelo animal (McBRIDE & KELLY, 1990). Atualmente em alguns estudos que buscam a melhoria de desempenho, têm sido pesquisada a morfologia intestinal das aves com o objetivo de se correlacionar uma possível melhora na performance com uma melhor condição intestinal. XU et al. (2003) avaliaram o impacto da adição de frutoligossacarídeos (FOS) na ração de frangos e concluíram que ocorreu um aumento no ganho de peso no tratamento que também mostrou maior altura de vilos no íleo e uma maior relação vilos:cripta no jejuno e no íleo.

2.3.1 Importância dos peptídeos na dieta

A digestão da proteína nas aves tem início somente após a chegada do alimento no proventrículo, onde ocorre a secreção de HCl e pepsinogênio. O baixo pH do meio leva a ativação do pepsinogênio à pepsina, que inicia a hidrólise das

proteínas no proventrículo e na moela (PENZ JÚNIOR, 1994). Passando para o duodeno, as proteínas ingeridas sofrem a ação de enzimas secretadas pelo pâncreas e pelo próprio intestino (RUTZ, 2002). Todo esse processo tem como objetivo a degradação das moléculas protéicas até o tamanho em que a absorção seja possível, ou seja, a transformação de polipeptídios em aminoácidos livres, di ou tripeptídios.

Os aminoácidos e os oligopeptídios são absorvidos no trato gastrintestinal, completando as necessidades dos animais para atender o crescimento e a manutenção (WEBB, et al., 1992). Três são os mecanismos pelos quais os aminoácidos são absorvidos (FRENHANI & BURINI, 1999): transferência passiva por difusão simples, transferência passiva por difusão facilitada e transferência ativa por co-transporte. Ambos os meios de transferência passiva ocorrem sempre a favor de um gradiente de concentração e envolvem, principalmente, aminoácidos livres. Já a absorção ativa ocorre mesmo em situações em que exista uma saturação dos aminoácidos, com o mecanismo “bombeando” estes aminoácidos para o interior do enterócito. O transporte ativo é mais eficiente, ocorre em maior escala e é o principal mecanismo para a absorção de di e tri-peptídeos.

Os peptídeos são absorvidos mais eficientemente que os aminoácidos livres. Alguns fatores poderiam explicar tal fenômeno (FRENHANI & BURINI, 1999):

- a) aminoácidos livres são bem absorvidos no intestino delgado proximal, sendo que os di e tri-peptídeos são absorvidos em todo o intestino delgado;
- b) os di e tri-peptídeos são absorvidos 10 vezes mais rapidamente que os aminoácidos livres;
- c) alguns aminoácidos livres competem pelo mesmo carreador, fazendo com que haja inibição da absorção;
- d) os di e tri-peptídeos apresentam uma maior absorção do que os tetra-peptídeos (ou moléculas maiores), visto que estes precisam ser hidrolisados primeiramente, a fim de serem absorvidos; e
- e) o transporte de peptídeos possibilita uma maior conservação da energia metabólica, visto que o gasto para se transportar um ou mais aminoácidos através da membrana é idêntico.

COSNES et al. (1992) trabalharam comparando três tipos de dietas em humanos, uma a base de proteínas integrais, outra com um hidrolisado protéico (com 63% de pequenos peptídeos) e a terceira como sendo uma mistura das duas primeiras dietas. Os pesquisadores relatam que houve uma melhor absorção de nitrogênio nas dietas contendo os peptídeos de cadeia curta, se comparadas com a dieta contendo apenas proteínas integrais. Os autores concluem neste estudo que a utilização de uma dieta contendo peptídeos pode ser benéfica para indivíduos com problemas entéricos que comprometam a digestão de alimentos.

Em suínos, RÉRAT & NUNES (1988) compararam a eficiência na absorção de aminoácidos de um hidrolisado de leite, na forma de oligopeptídeos (cadeias de até cinco aminoácidos) e do mesmo hidrolisado, contendo apenas aminoácidos livres, em duas concentrações diferentes de aminoácidos, através de infusão diretamente no duodeno. Os autores concluíram que a absorção de aminoácidos foi maior, mais rápida e mais homogênea após a infusão do hidrolisado na forma de peptídeos, em comparação com os aminoácidos livres, mostrando uma maior eficiência no processo quando do recebimento de peptídeos por parte do animal.

O fornecimento de uma dieta contendo 20% da fonte protéica na forma de di- e tri-peptídeos por 21 dias melhorou o crescimento, a sobrevivência e a atividade das enzimas proteolíticas em larvas de peixe “sea bass” (INFANTE et al., 1997).

2.4 Sobre o DPS

O DPS é um produto originado da indústria farmacêutica humana. Após a extração da heparina, o intestino delgado e sua mucosa são processados, originando uma peptona líquida rica em aminoácidos e outros nutrientes. Este produto é, então, condensado sob temperatura elevada e o excesso de umidade é removido à vácuo, passando, posteriormente, por um processo de secagem por rolos.

O produto, em seu processo de fabricação, passa por uma hidrólise enzimática das proteínas do intestino delgado de suínos, resultando em um composto protéico (50% de proteína bruta), na forma de peptídeos de altíssimo valor biológico. A composição nutricional proximal (Tabela 2) assemelha-se com a de uma

farinha de vísceras, com a diferença de apresentar sua proteína previamente hidrolisada.

Tabela 2 - Composição nutricional proximal do DPS

Nutriente	Composição (%)
Proteína bruta	50,00
Extrato etéreo	9,50
Matéria mineral	27,00
Cálcio	0,05
Fósforo	1,40
Sódio	8,00
Potássio	1,00
Cloro	1,00
Lisina	3,10
Metionina + Cistina	1,75
Treonina	2,00
Triptofano	0,35
Ácido glutâmico	6,00

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Das aves utilizadas e tratamentos

Foram alojadas 1.680 aves não sexadas, resultando numa densidade de 17,5 aves/m² no momento do alojamento, provenientes de matrizes da linhagem Ross 508 com 65 semanas de idade. Conforme o andamento do experimento, as aves foram sacrificadas para coleta de material, resultando em uma densidade final de 13,75 aves/m². As aves foram divididas em quatro tratamentos com seis repetições cada, resultando em um fatorial 2 x 2 (dois tipos de vacinas e dois tipos de ração), como segue:

- Tratamento 1 (T1): aves que foram imunizadas contra coccidiose logo após o nascimento com uma vacina à base de oocistos vivos atenuados (Paracox), através de vacinação via spray; e que receberam 2% de um hidrolisado de mucosa e intestino de suínos como fonte protéica na forma de peptídeos (DPS) até os 21 dias de idade;

- Tratamento 2 (T2): idem ao T1, porém sem o fornecimento de DPS até os 21 dias de idade;

- Tratamento 3 (T3): aves originadas de matrizes vacinadas com antígenos purificados isolados do estágio do gametócito de *Eimeria*, a fim de garantir a imunidade contra a coccidiose na progênie (Coxabic); e que receberam o DPS até os 21 dias de idade;

- Tratamento 4 (T4): idem ao T3, porém sem o fornecimento de DPS até os 21 dias de idade.

A utilização da vacina Coxabic tem como objetivo única e exclusivamente a produção de imunidade para posterior transmissão à progênie. As matrizes que deram origem aos pintinhos foram imunizadas em seu primeiro dia de vida com uma vacina de coccidiose comercial, a fim de proteger as matrizes dos desafios de campo. Posteriormente a essa vacinação, às 14 semanas, as matrizes receberam a primeira dose da vacina Coxabic, sendo que a segunda dose foi aplicada às 18 semanas de idade das matrizes. Com o objetivo de se avaliar a persistência da transmissão da imunidade, foram utilizados os pintinhos das matrizes com 65

semanas de idade. Ou seja, aproximadamente 50 semanas após a vacinação com Coxabac.

Os ovos foram coletados de um mesmo núcleo de produção de matrizes, sendo que foi apenas feita a separação entre as matrizes vacinadas e as não vacinadas para coccidiose. Os ovos foram identificados e incubados em uma mesma máquina de incubação e de nascimento de pintos. Após o nascimento, as aves originadas de matrizes não vacinadas foram imunizadas com a vacina a base de oocistos atenuados via spray. As caixas com os pintos foram identificadas com fita adesiva e a inscrição “vacina matriz” e “vacina incubatório”.

Todas as aves utilizadas no experimento foram imunizadas contra doença de Marek, via intra-ovo, ao décimo oitavo dia de incubação, e contra bronquite, via spray após o nascimento.

3.2 Instalações experimentais

As aves foram alojadas em 24 boxes medindo 2 x 2 metros. Estes foram instalados dentro de um aviário convencional de criação, com o objetivo de se aproximar ao máximo dos desafios que normalmente ocorrem durante o crescimento das aves. O aviário era equipado com bebedouros tipo nipple e comedouros tubulares, dotado de sistema de aquecimento para os pintinhos através do aquecimento do ar por forno a lenha e sistema de ventilação e nebulizadores para fazer a climatização do aviário. A cama era de maravalha e estava sendo utilizada pela segunda vez, após um intervalo de 17 dias entre lotes.

Todos os boxes foram equipados com um comedouro tubular e um bebedouro pendular. Nos primeiros dois dias de idade, além do comedouro, a ração foi fornecida aos animais sobre um papel, a fim de facilitar o acesso dos animais à comida.

3.3 Manejo das aves

O manejo das aves obedeceu ao padrão de manejo da indústria, com limpeza diária de comedouros e bebedouros. As aves mortas foram coletadas e a mortalidade anotada duas vezes ao dia.

As trocas de rações foram realizadas de acordo com a seqüência abaixo:

- pré-inicial: do primeiro ao sétimo dia;
- inicial: do oitavo ao 21^o dia;
- crescimento: do 22^o ao 38^o;
- abate: do 39^o ao 45^o dia de criação.

As formulações utilizadas estão listadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição das dietas (⁰/₁₀₀) de acordo com as fases de criação de aves vacinadas contra coccidose (Paracox ou Coxabic) e que receberam ou não o DPS

Ingrediente	Pré-inicial c/ DPS	Pré-inicial s/ DPS	Inicial c/ DPS	Inicial s/ DPS	Crescimento	Abate
Milho	484,00	458,00	575,00	555,00	598,00	671,00
Farelo de soja	412,76	443,96	324,22	350,77	288,57	213,12
Farinha de Vísceras	20,00	20,00	20,00	20,00	30,00	30,00
Farinha de Penas	-	-	-	-	15,00	20,00
Óleo de soja	27,00	36,00	-	-	-	-
Gordura de aves	-	-	29,50	37,00	49,00	49,00
Calcário	11,00	10,00	12,00	11,00	5,75	3,50
Sal comum	1,50	2,10	0,75	1,35	3,00	2,25
Lisina	0,80	0,70	0,50	0,50	1,10	1,70
Metionina	2,80	2,90	2,20	2,30	2,45	1,95
Treonina	-	-	-	-	0,30	0,35
Bicarbonato de sódio	-	5,00	-	5,00	1,00	2,00
Fosfato bicálcico	10,00	11,20	8,75	10,00	-	-
Colina 60%	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Vitamina E 50%	0,24	0,24	0,20	0,20	0,05	0,05
DPS 50 RD	20,00	-	20,00	-	-	-
Blend enzimático	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-
B. subtilis	0,08	0,08	0,03	0,03	0,03	0,03
Fitase	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10
Ácido láctico 70%	7,00	7,00	4,50	4,50	3,50	3,00
Premix vitamínico	0,75	0,75	0,50	0,50	0,40	0,25
Premix micromineral	1,20	1,20	1,00	1,00	1,00	1,00

Níveis nutricionais calculados

EM (kcal/kg)	2947	2951	3099	3098	3240	3280
PB (%)	24,80	25,00	21,47	21,51	20,00	17,48
EE (%)	5,53	6,18	5,98	6,50	8,07	8,24
Lisina (%)	1,50	1,50	1,25	1,25	1,17	1,03
Metionina + cistina (%)	1,04	1,05	0,91	0,91	0,87	0,76
Cálcio (%)	0,95	0,95	0,93	0,93	0,90	0,82
Fósforo disponível (%)	0,49	0,49	0,45	0,45	0,43	0,43
Sódio (%)	0,25	0,25	0,22	0,22	0,19	0,19
Cloro (%)	0,20	0,21	0,15	0,16	0,30	0,27
Potássio (%)	1,05	1,08	0,91	0,93	0,85	0,73
Meq/kg	322	326	286	289	217	194

Composição por kg do premix vitamínico: 20.000.000 UI Vitamina A; 6.000.000 UI Vitamina D₃; 80.000 UI Vitamina E; 6000 mg Vitamina K₃; 4.900 mg Vitamina B₁; 14.000 mg Vitamina B₂; 8.000mg Vitamina B₆; 40 mg Vitamina B₁₂; 100.000 mg Niacina; 26.000 mg Ácido Pantotênico; 300 mg Biotina; 4.000 mg Ácido Fólico; 600 mg Selênio.

Composição por kg do premix mineral: 50.000 mg Ferro; 90.000 mg Manganês; 100.000 mg Zinco; 8.000 mg Cobre; 750 mg Iodo.

3.4 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento experimental totalmente ao acaso em um arranjo fatorial 2x2 (dois tipos de vacina e a utilização ou não do DPS). Os dados foram analisados através do programa Statistix 8.0. Foi utilizada a análise de variância e o teste de Tukey a 5% como comparação das médias.

3.5 Dados avaliados

Após o alojamento das aves, iniciou-se a coleta de dados das variáveis que seguem.

3.5.1 Desempenho zootécnico

As aves tiveram seu desenvolvimento acompanhado através de pesagens periódicas, aos 4, 7, 14, 30 e 45 dias.

O consumo de ração foi calculado, descontando-se as sobras de ração do total de ração fornecida, nos dias das trocas. De posse desses dados, pode-se calcular a conversão alimentar e a conversão alimentar corrigida para 2,500kg, que foi calculada conforme Equação 1.

$$CACor_{2500} = \left(\frac{(2,500 - PV)}{3} \right) + CA, \text{ onde:}$$

CACor₂₅₀₀ = Conversão alimentar corrigida para 2,500kg de peso vivo;

PV = Peso vivo dos animais;

CA = conversão alimentar obtida pelos animais

Equação 1 - Equação para correção da conversão alimentar para 2,500kg

3.5.2 Avaliações laboratoriais

Três aves de cada box foram sacrificadas nos dias 4, 7, 14, 21 e 28. Dessas aves, foi coletado material para realização de análises laboratoriais, como segue.

3.5.2.1 Sorologia para coccidiose

Foi realizada a coleta de sangue, feita nos dias citados, sendo que o sangue de cada uma das aves abatidas foi coletado, em tubos de ensaio individuais, para realização de titulação de anticorpos contra coccidiose. Assim, foram realizadas 72 análises em cada um dos dias de abate. A titulação foi feita utilizando-se o kit de ELISA CoxAbic, pelo método indireto (CRITTER, 2005). A análise detecta anticorpos específicos em amostras de soro contra antígenos purificados de gametócitos de *Eimeria máxima*, com pesos moleculares de 56 kDa, 82 kDa e 230 kDa. O sangue foi coletado e enviado ao laboratório Mercolab, para a centrifugação e separação do soro. Em seguida, o soro foi congelado para ser enviado ao laboratório Avipa para a realização da análise de ELISA (ABIC[®], Israel). Após a preparação do soro, a absorbância foi mensurada através de leitor de ELISA, na faixa de 405 nm, sendo o resultado calculado de acordo com a fórmula fornecida pelo produtor de kit (Equação 2). Caso os frangos de corte apresentem um valor S/P maior que 0,2, estes são considerados como imunizados contra coccidiose (ZIOMKO et al., 2005).

$$S/P = \frac{\text{ResultadoDaAmostra} - \text{ControleNegativo}}{\text{ControlePositivo} - \text{ControleNegativo}}$$

Equação 2 – Equação para cálculo da relação S/P de antígenos contra coccidiose

3.5.2.2 Morfologia intestinal

Foram coletados intestinos para a confecção de lâminas e posterior avaliação dos tamanhos de vilosidades e profundidades das criptas. Aos 7, 14, 21 dias de idade, foram coletadas porções do duodeno, jejuno e íleo de uma ave de cada um dos boxes. Após o abate das aves, as porções intestinais foram coletadas e lavadas em solução salina, fixadas em solução de Boin e posteriormente desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafinizadas em xilol e incluídas em parafina para obtenção dos cortes histológicos longitudinais e semi-seriados. Os cortes histológicos tiveram cinco micrômetros de espessura e foram corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. As lâminas tiveram suas imagens capturadas por

uma câmera digital PRO SERIES da Media Cybernetics[®], sendo esta acoplada a um microscópio Olympus Bx 40, no departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá. A leitura das imagens, para avaliar o desenvolvimento intestinal através de estudo morfológico e morfométrico, foi realizada através do programa IMAGE PROPLUS 4.1, da Media Cybernetics[®]. Ao total, foram coletadas as porções intestinais de 72 aves, sendo que, de cada porção, foram produzidas duas lâminas, chegando-se ao número de 432 lâminas.

3.5.2.3 Contagem de oocistos na cama

Foram coletadas amostras de cama para contagem de oocistos antes do alojamento e nos dias 4, 7, 14, 21 e 28. A contagem de oocistos foi realizada através da técnica de MacMaster modificada, que consiste na diluição da amostra de cama em água, seguida de filtração e centrifugação. Após, à amostra é adicionada solução salina saturada, que é acondicionada numa câmara de MacMaster para contagem dos oocistos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Contagem de oocistos na cama

A excreção de oocistos pelos animais é uma forma indireta de se medir o grau de resistência do hospedeiro contra os parasitos. Existem citações na literatura que correlacionam uma menor excreção de oocistos com uma maior proteção por parte do animal (SMITH et al., 1994a; SMITH et al., 1994b; WILLIAMS, 1998). Apesar do elevado coeficiente de variação, que é inerente a este tipo de análise, as aves que receberam Coxabic apresentaram um menor número de oocistos na cama aos 21 dias de idade, mostrando um grau de proteção maior contra a coccidiose (Tabela 4).

Aos 28 dias, apesar da diferença numérica ser ainda maior, o elevado coeficiente de variação não permitiu que a diferença entre as vacinas se evidenciasse (Tabela 4). Uma diminuição na excreção de oocistos após a terceira semana de vida dos frangos de corte foi observada por MICHAEL (2005), sendo que, no caso deste experimento, o fato das aves estarem confinadas pode ter sido a causa do aumento da contagem de oocistos na cama.

Tabela 4 - Contagem de oocistos na cama de frangos de corte criados com dois tipos de vacinas e com ou sem DPS (oocistos / g de cama)

Fator principal		Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Vacina	Paracox	120,83	108,33	100,00	333,33	1125,00
	Coxabic	128,33	100,00	100,00	100,00	383,30
DPS	Sem DPS	96,67	108,33	100,00	170,00	800,00
	Com DPS	152,50	100,00	100,00	258,33	708,33
Interações		P	P	P	P	P
Vacina		0,9060	0,3293	-	0,0487	0,2440
DPS		0,3838	0,3293	-	0,4623	0,8835
Vacina*DPS		0,0683	0,3293	-	0,4623	0,9469
CV		123,28	19,59	0,00	125,69	200,65

O fato da vacina Paracox ter produzido uma maior excreção de oocistos pode estar relacionada ao conceito da vacinação. Como a Paracox é uma vacina viva, onde são administrados oocistos viáveis nas aves, ao contrário da Coxabic, que trabalha unicamente com a transferência de anticorpos das matrizes, um número maior de oocistos estaria circulando no meio onde as aves estariam alojadas.

4.2 Sorologia

A análise dos dados da sorologia mostrou que as aves oriundas das matrizes vacinadas com Coxabic apresentaram níveis de anticorpos considerados suficientes para proteger as aves contra a coccidiose (relação maior que 0,20), assim como mostrada nos trabalhos de ZIOMKO et al. (2005) e WALLACH et. al (1995). No sétimo dia os títulos diminuem, atingindo o menor valor aos 14 dias. Após esse período, os títulos voltam a subir, atingindo o valor máximo aos 28 dias, mostrando que as aves produziram imunidade ativa contra a coccidiose (Tabela 5).

As aves que receberam Paracox mostraram um título baixo no período inicial. Da mesma forma que as aves que receberam Coxabic, aos 28 dias, as aves vacinadas com Paracox apresentaram titulação alta contra coccidiose, indicando uma imunização ativa por parte das mesmas.

Contrariando as pesquisas de ROSE & HESKETH (1979), os dados gerados mostram que a imunização contra coccidiose através de anticorpos maternos é possível, visto que as aves mostram estar protegidas contra a coccidiose. Os dados mostraram, também, que a proteção gerada pelos anticorpos maternos é suficiente para proteger os animais contra infecções clínicas, até que estes sejam capazes de produzirem sua própria imunidade, como citado por SMITH (2005).

Não foi encontrada nenhuma interação entre os fatores tipo de vacina e a utilização ou não do DPS.

Tabela 5 – Resultados da sorologia contra coccidiose aos 4, 7, 14, 21 e 28 dias de aves vacinadas contra coccidiose com Coxabic ou Paracox e que receberam ou não o DPS

		Dia 4	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Vacina	Paracox	0,1462	0,1074	0,0871	0,2282	1,0739
	Coxabic	0,5987	0,1163	0,0842	0,1723	0,9356
DPS	Sem DPS	0,4423	0,1151	0,0942	0,2555	0,8912
	Com DPS	0,3026	0,1086	0,0772	0,1449	1,1183
Interações		P	P	P	P	
Vacina		0,0088	0,7399	0,8445	0,4834	0,6118
DPS		0,2139	0,8089	0,2623	0,1727	0,4070
Vacina*DPS		0,4962	0,7220	0,3359	0,4120	0,8035
CV		41,46	57,81	42,09	95,77	65,38

Embora nenhum problema clínico pudesse ser evidenciado dentro das condições às quais as aves foram submetidas, a avaliação da Tabela 5 mostra que

em ambas as vacinas, as aves passaram por um período sem uma proteção efetiva contra a coccidiose, mostrando títulos vacinais inferiores a 0,20. Somente após a terceira semana da vida as aves tornaram-se imunes, através da formação de imunidade ativa. Esses dados abrem espaço para a especulação da real eficácia destas vacinas contra a coccidiose, frente a desafios maiores ou mais precoces de coccidiose.

4.3 Morfometria intestinal

De acordo com PLUSKE et al. (1997), maior valor de profundidade de cripta indica maior atividade proliferativa celular, para garantir adequada taxa de renovação epitelial, compensando as perdas nas extremidades das vilosidades. Sabe-se que o equilíbrio entre dois processos: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes (“stem cells”) localizadas na cripta e ao longo dos vilos (UNI et al., 1998; UNI, 2000) e perda de células (extrusão) que ocorre normalmente no ápice dos vilos, determinam um “turnover” celular (mitose-migração-extrusão) constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos e, portanto, a manutenção da capacidade digestiva e de absorção intestinal.

Entretanto, quando o intestino responde a algum agente (microrganismos, por exemplo), com um desequilíbrio no “turnover” a favor de um dos processos citados acima, ocorre uma modificação na altura. Assim, se ocorrer um aumento na taxa de mitose com diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá haver um aumento no número de células e conseqüentemente um aumento na altura e no perímetro dos vilos até o pregueamento da parede dos mesmos. Se o estímulo levar a um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição na taxa de proliferação, o intestino deverá responder com uma redução na altura dos vilos e, conseqüentemente diminuição em sua capacidade de digestão e absorção (PLUSKE et al., 1997).

4.3.1 Resultados da morfometria aos sete dias

A avaliação morfométrica aos sete dias mostrou que as aves que receberam o DPS apresentaram uma maior altura dos vilos no jejuno e no íleo, bem como uma maior relação vilo:cripta no íleo (Tabela 6).

A interação entre o tipo de vacina e o fornecimento ou não de DPS mostrou que a utilização da vacina Paracox resultou numa menor altura dos vilos e numa menor relação vilo:cripta no duodeno, sendo que a utilização de DPS foi capaz de recuperar estes parâmetros intestinais, igualando-os aos das aves que receberam Coxabic. O fato de a vacina Coxabic imunizar as aves sem a inoculação de oocistos vivos pode ser o responsável pela menor lesão no epitélio do duodeno, resultando numa maior altura dos vilos. MACARI & MAIORKA (2000) citam que duas fases do ciclo de vida das diferentes espécies de eimerias ocorrem dentro das células epiteliais, levando a destruição destas. Os desdobramentos destas interações estão listados na Tabela 7 e na Tabela 8.

4.3.2 Resultados da morfometria aos 14 dias

Não foram encontradas interações nas avaliações do intestino aos 14 dias. A utilização de Paracox resultou numa menor altura dos vilos do duodeno e do jejuno, além de uma menor relação vilo:cripta nos três segmentos do intestino, mostrando uma maior agressão ao epitélio intestinal quando da utilização das vacinas vivas. A utilização de Coxabic produziu, ainda, uma menor profundidade de cripta no íleo e jejuno (Tabela 8). Esses dados vão de acordo com o comentário de TUCCI (2003) citado por LUQUETTI (2005), afirmando que uma relação vilo:cripta diminuída indica vilos danificados e uma atividade proliferativa aumentada nas criptas, objetivando restaurar a forma e a função do epitélio.

Devido a melhor digestão e absorção dos peptídeos, FRENHANI & BURINI (1999) recomendam sua utilização para pacientes humanos que apresentem qualquer nível de comprometimento intestinal. A utilização de DPS, por sua vez, foi capaz de aumentar a relação vilo:cripta no duodeno e no jejuno, mostrando que o fornecimento de peptídeos é capaz de melhorar estes parâmetros.

4.3.3 Resultados da morfometria aos 21 dias

Os resultados encontrados na morfometria aos 21 dias estão listados na Tabela 10. Houve uma interação entre o tipo de vacina utilizada e o fornecimento ou não do DPS na profundidade das criptas e na relação vilo:cripta do jejuno e na altura dos vilos do íleo.

O desdobramento da interação na profundidade das criptas (Tabela 11) mostra que as aves vacinadas com Paracox apresentaram uma maior profundidade de cripta, se comparadas com aquelas que foram imunizadas com Coxabic. A utilização do DPS em conjunto com a Paracox foi capaz de diminuir a profundidade das criptas, igualando aos resultados obtidos com a Coxabic. Também foi verificada uma menor relação vilo:cripta naquelas aves vacinadas com Paracox e, com a utilização do DPS, essa relação foi igualada às aves imunizadas com Coxabic (Tabela 12). O efeito no tamanho dos vilos do íleo (Tabela 13) também sofreu a interferência da utilização do DPS naquelas aves vacinadas com Paracox, igualando à condição das aves imunizadas com Coxabic e que receberam ou não o DPS.

MACARI & MAIORKA (2000) definem o termo agente trófico como as substâncias que atuam no desenvolvimento intestinal, estimulando o processo mitótico na região cripta-vilo, levando a um aumento no número de células e no tamanho dos vilos. O fornecimento de DPS até os 21 dias de idade melhorou a altura dos vilos do duodeno e jejuno e a relação vilo:cripta do duodeno e do íleo (Tabela 10). Isso sugere que a utilização de aminoácidos na forma de peptídeos é capaz de melhorar a condição do epitélio intestinal, devido a sua maior biodisponibilidade, agindo como um agente trófico.

O DPS é uma fonte protéica de alta digestibilidade, composta de vários aminoácidos essenciais na forma de peptídios. Pode-se dar destaque à glutamina, que constitui 6% do DPS. Essa glutamina, que é utilizada basicamente na nutrição local do tecido epitelial, na forma de peptídios, poderia ter contribuído para a melhoria da qualidade intestinal das aves vacinadas contra coccidiose. Dentro do processo produtivo do DPS, a proteína intestinal é hidrolisada com o objetivo de se extrair a heparina, que, por sua vez, deve ser funcional. Esse processo “delicado” de hidrólise pode preservar outras moléculas intestinais, tais como os hormônios de

crescimento local, como EGF's, entre outros. Esses compostos, que provavelmente são destruídos nos processos convencionais de produção das farinhas de vísceras, também podem ter contribuído para a melhoria do epitélio intestinal. Mais pesquisas devem ser realizadas com o objetivo de se elucidar o real papel do DPS como agente trófico intestinal.

Tabela 6 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (μm) aos sete dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS

Fator principal		Duodeno			Jejuno			Íleo		
		Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C
Vacina	Paracox	995,00	160,23	6,50	495,18	141,14	3,54	383,80	130,97	2,97
	Coxabic	1112,80	155,34	7,25	508,24	127,90	4,04	380,30	135,67	2,82
DPS	Sem DPS	1005,70	166,27	6,21	463,69	133,57	3,54	345,11	132,75	2,61
	Com DPS	1102,20	149,30	7,53	539,73	135,47	4,05	418,99	133,89	3,17
Interações		P	P	P	P	P	P	P	P	P
Vacina		0,0105	0,6500	0,0517	0,6722	0,0841	0,0609	0,8572	0,4258	0,2875
DPS		0,0298	0,1304	0,0022	0,0226	0,7956	0,0565	0,0011	0,8464	0,0005
Vacina*DPS		0,0277	0,0689	0,0005	0,6884	0,4646	0,3777	0,1013	0,6876	0,0296
CV		7,77	13,73	10,52	13,66	12,12	14,81	11,99	10,36	11,07

Tabela 7 - Comparação do tamanho dos vilos (μm) do duodeno dentro da interação vacina x peptídeos aos 7 dias de idade

	Vacina		
	Paracox		Coxabic
Suplementação de peptídeos	Sem DPS	897,70 ^b	1113,60 ^a
	Com DPS	1092,30 ^a	1112,10 ^a

Tabela 8 - Comparação da relação vilo:cripta do duodeno dentro da interação vacina x peptídeos aos 7 dias de idade

	Vacina		
	Paracox		Coxabic
Suplementação de peptídeos	Sem DPS	5,04 ^b	7,38 ^a
	Com DPS	7,95 ^a	7,12 ^a

Tabela 9 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (μm) aos 14 dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS

Fator principal		Duodeno			Jejuno			Íleo		
		Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C
Vacina	Paracox	1318,00	183,27	7,31	543,85	174,09	3,23	415,56	133,43	3,19
	Coxabic	1511,80	185,83	7,42	611,17	148,71	4,18	436,31	110,53	3,99
DPS	Sem DPS	1376,60	192,98	7,23	556,98	167,76	3,46	402,90	121,24	3,42
	Com DPS	1453,20	176,12	8,49	598,98	155,05	3,96	448,98	122,73	3,76
Interações		P	P	P	P	P	P	P	P	P
Vacina		0,0089	0,8250	0,0209	0,0299	0,0236	0,0008	0,4116	0,0074	0,0013
DPS		0,2653	0,1552	0,0095	0,1675	0,2314	0,0479	0,0778	0,8470	0,1249
Vacina*DPS		0,2333	0,8266	0,6903	0,7781	0,5214	0,5299	0,5716	0,4666	0,7715
CV		11,58	15,16	13,73	11,42	14,68	14,66	13,87	14,97	14,14

Tabela 10 - Tamanho dos vilos e profundidade das criptas (μm) aos 21 dias de idade de aves vacinadas com Paracox ou Coxabic e que receberam ou não o DPS

Fator principal		Duodeno			Jejuno			Íleo		
		Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C	Vilo	Cripta	Rel V:C
Vacina	Paracox	1494,40	194,87	7,97	715,01	172,66	4,59	434,69	125,52	3,58
	Coxabic	1583,10	194,26	8,41	758,71	140,77	5,44	507,81	132,26	3,91
DPS	Sem DPS	1357,80	199,66	7,04	704,85	180,09	4,21	444,97	134,71	3,40
	Com DPS	1719,80	189,47	9,34	768,86	133,34	5,83	497,53	123,07	4,09
Interações		P	P	P	P	P	P	P	P	P
Vacina		0,0890	0,9592	0,5183	0,0832	0,0004	0,0005	0,0134	0,4566	0,1725
DPS		0,0001	0,3932	0,0026	0,0149	0,0001	0,0001	0,0649	0,2046	0,0082
Vacina*DPS		0,4423	0,9069	0,8847	0,7034	0,0001	0,0001	0,0333	0,8978	0,0704
CV		7,69	14,33	19,30	7,75	11,23	9,63	13,61	16,43	14,86

Tabela 11 - Comparação da profundidade das criptas (μm) do jejuno dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade

		Vacina	
		Paracox	Coxabic
Suplementação de peptídeos	Sem DPS	219,70 ^a	141,11 ^b
	Com DPS	126,25 ^b	140,43 ^b

Tabela 12 - Comparação da relação vilo:cripta do jejuno dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade

		Vacina	
		Paracox	Coxabic
Suplementação de peptídeos	Sem DPS	3,19 ^b	5,22 ^a
	Com DPS	6,00 ^a	5,67 ^a

Tabela 13 - Comparação do tamanho dos vilos (μm) do íleo dentro da interação vacina x peptídeos aos 21 dias de idade

		Vacina	
		Paracox (1)	Coxabic (0)
Suplementação de peptídeos	Sem DPS (0)	377,63 ^b	512,31 ^a
	Com DPS (1)	491,75 ^a	503,31 ^a

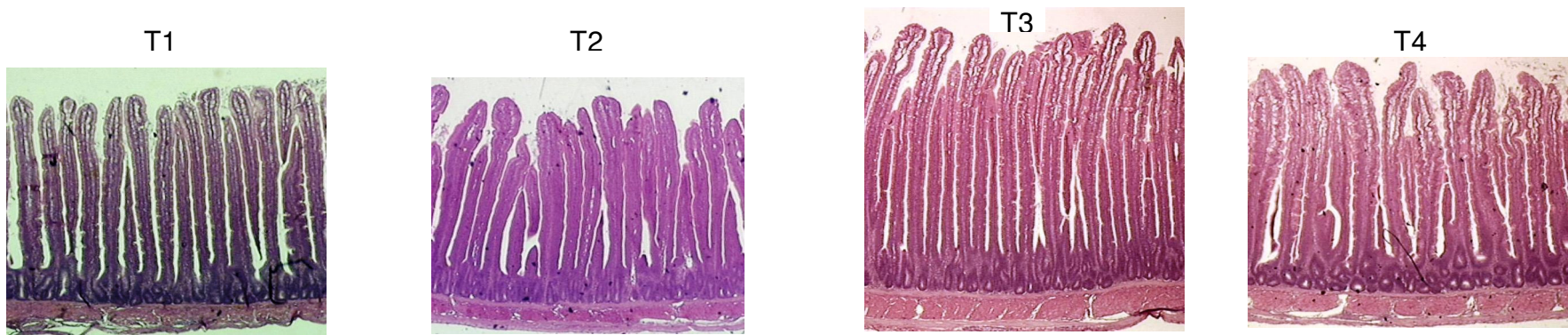


Figura 1 - Corte transversal de duodeno aos sete dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

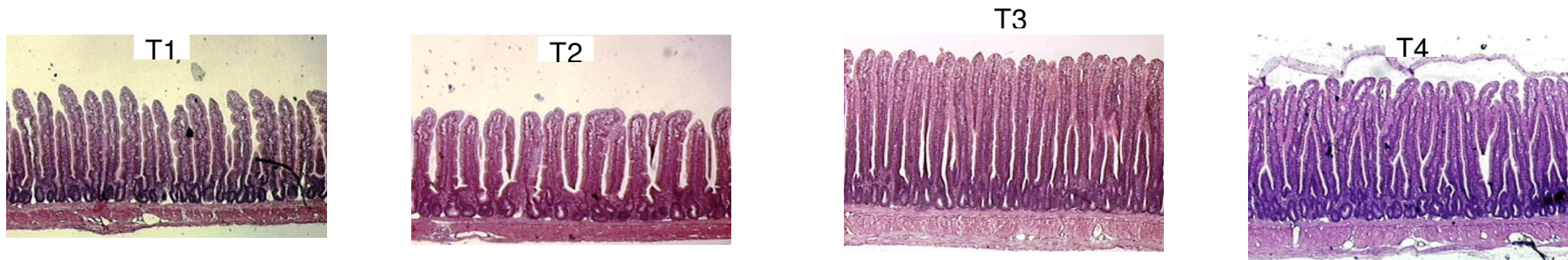


Figura 2 - Corte transversal de jejuno aos sete dias de aves que receberam (T1 e T3) ou não o DPS (T2 e T4) e vacinadas contra coccidiose com Paracox (T1 e T2) ou Coxabic (T3 e T4) - aumento de 4x

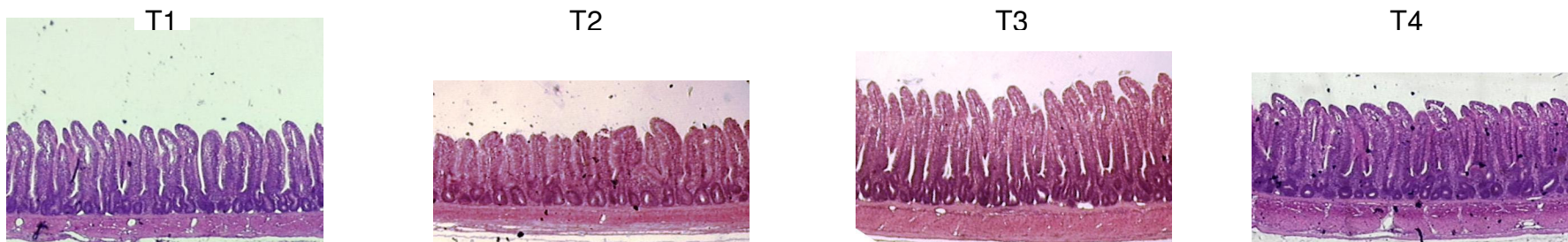


Figura 3 - Corte transversal de íleo aos sete dias de aves que receberam (T1 e T3) ou não o DPS (T2 e T4) e vacinadas contra coccidiose com Paracox (T1 e T2) ou Coxabic (T3 e T4) - aumento de 4x

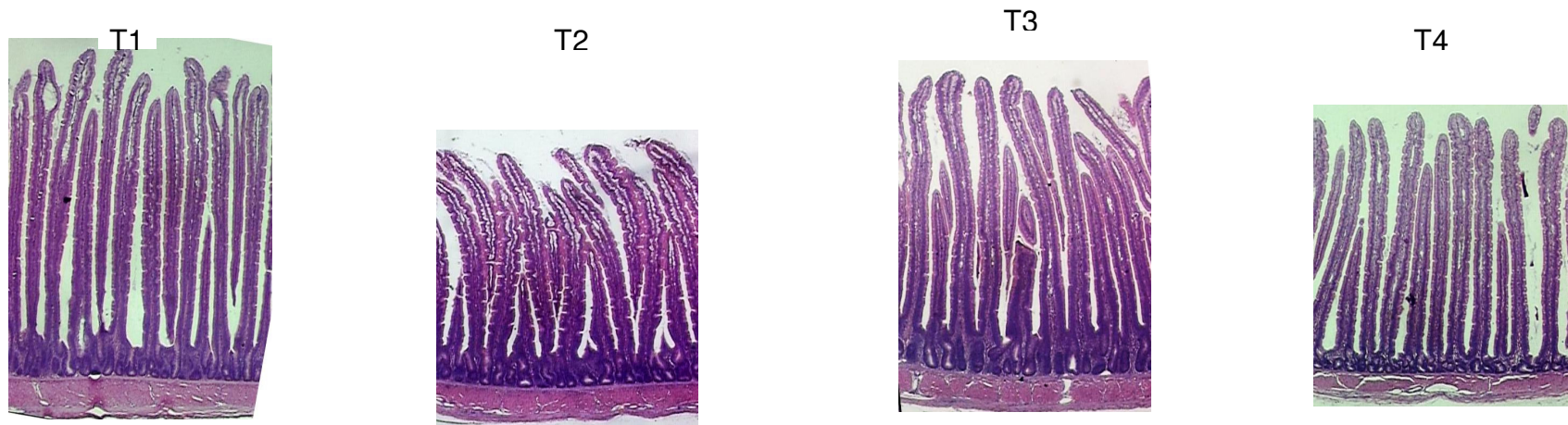


Figura 4 - Corte transversal de duodeno aos 14 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

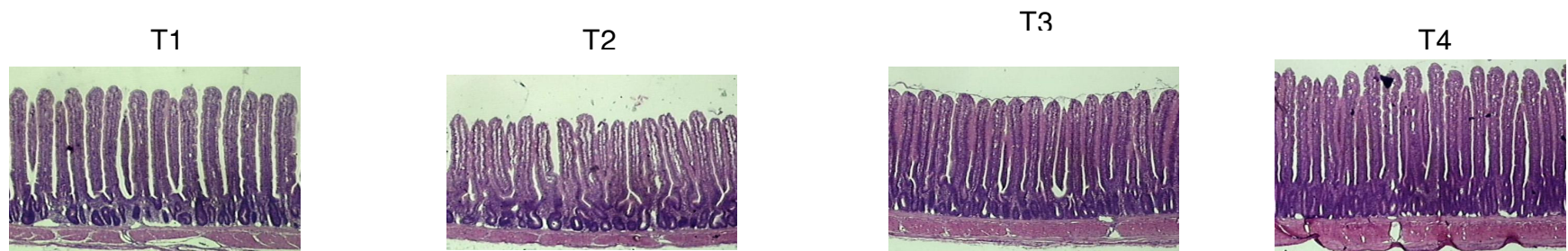


Figura 5 - Corte transversal de jejuno aos 14 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

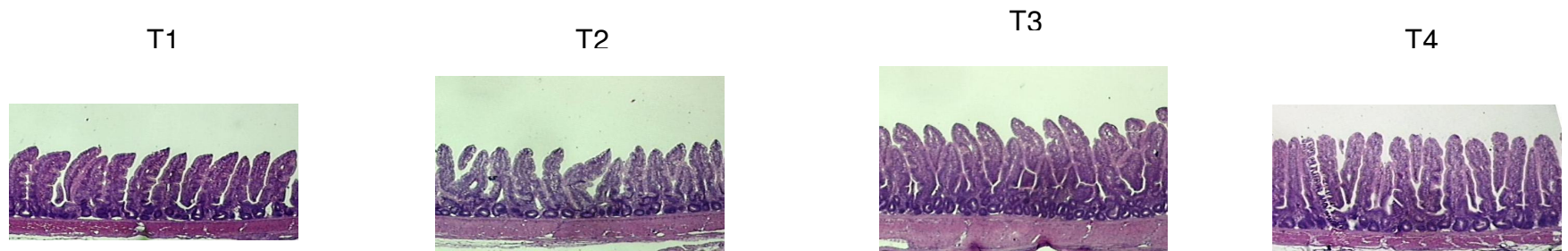


Figura 6 - Corte transversal de íleo aos 14 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

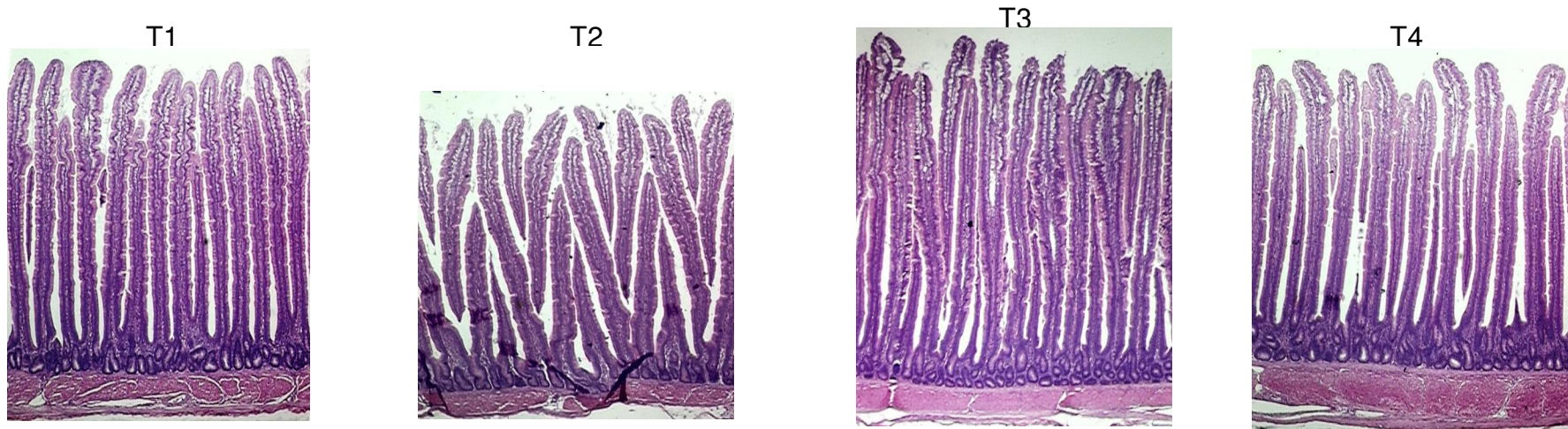


Figura 7 - Corte transversal de duodeno aos 21 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

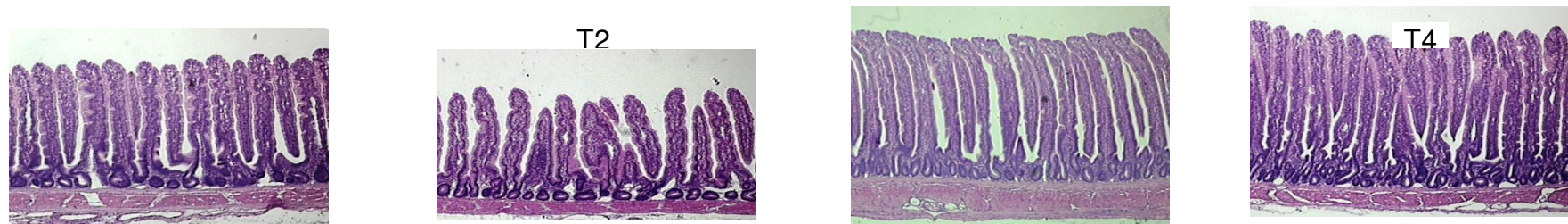


Figura 8 - Corte transversal de jejunos aos 21 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

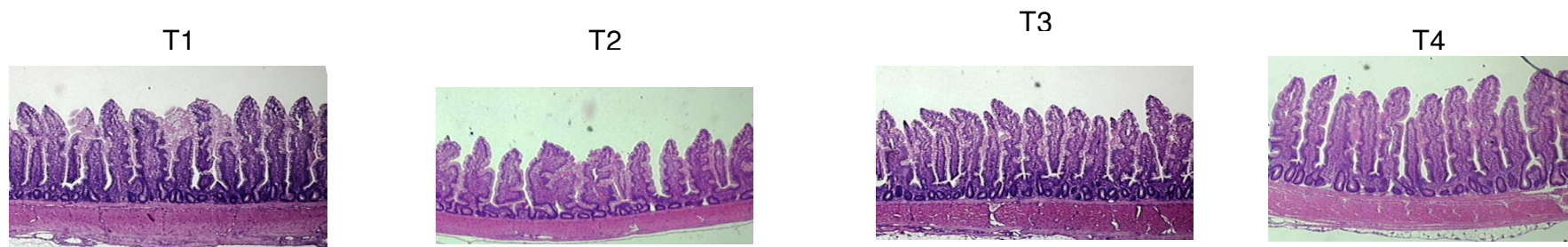


Figura 9 - Corte transversal de íleo aos 21 dias de aves que receberam ou não o DPS e vacinadas contra coccidiose com Paracox ou Coxabic (aumento de 4x)

4.4 Desempenho zootécnico

A pesagem das aves mostrou existir uma diferença de peso entre as aves vacinadas com diferentes tipos de vacina até os 14 dias, com as aves vacinadas com Coxabic mostrando-se mais pesadas. Após esse período não foram encontradas mais diferenças. Desta forma, a recuperação de peso mostrada pelas aves vacinadas com Paracox vai de encontro com a citação de McCARTER (Boletim Técnico), contrariando ainda os dados do MANUAL DE RESULTADOS DA COOPAVEL (2005). As aves vacinadas com Coxabic tiveram uma menor conversão alimentar aos 45 dias, porém sem ser estatisticamente significativa.

A utilização do DPS melhorou significativamente o peso das aves em todas as pesagens, com exceção da pesagem aos sete dias, quando o coeficiente de variação foi maior. Foi melhorada, também, com o DPS, a conversão alimentar aos 45 dias. Se forem cruzados os dados do desempenho zootécnico com os da morfometria intestinal, fica evidente que as aves que apresentaram uma melhor condição intestinal também obtiveram um melhor peso em todas as idades avaliadas e uma melhor conversão alimentar aos 45 dias de idade. Como a manutenção do funcionamento do epitélio intestinal tem um elevado custo energético para os animais (McBRIDE & KELLY, 1990), o fato de o DPS manter uma melhor condição deste tecido pode explicar a melhoria na conversão alimentar e o melhor ganho de peso das aves que receberam o produto.

Os dados zootécnicos estão listados na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultado zootécnico de aves tratadas ou não com DPS e vacinadas contra coccidiose (Coxabic ou Paracox)

		P4	P7	P14	P30	P45	CA	CACor
Vacina	Paracox	107,92	178,82	471,35	1487,20	2597,90	1,8830	1,8609
	Coxabic	109,98	189,65	483,71	1517,50	2566,40	1,8572	1,8246
DPS	Sem DPS	107,82	181,16	471,38	1477,50	2548,60	1,8946	1,8784
	Com DPS	110,09	187,30	483,68	1527,30	2615,60	1,8456	1,8071
Interações		P	P	P	P	P	P	P
Vacina		0,0172	0,0084	0,0149	0,1195	0,1176	0,2146	0,1362
DPS		0,0096	0,1129	0,0153	0,0146	0,0024	0,0243	0,0063
Vacina*DPS		0,7289	0,9175	0,2865	0,4400	0,3946	0,0861	0,0880
CV		1,78	4,92	2,38	3,04	1,83	2,64	3,11

Variáveis: os pesos (g) são representados por PX, onde X é a idade dos animais quando pesados, CA = conversão alimentar, CACor = Conversão alimentar corrigida para 2,500kg, CV = Coeficiente de variação; P = nível de significância pela análise de variância,

5 CONCLUSÕES

Dentro das condições a que as aves foram submetidas no experimento, apenas com o contato natural e sem a inoculação experimental de oocistos, pode-se dizer que ambas as vacinas contra coccidiose (Paracox ou Coxabic) são eficientes na proteção contra esta doença, embora as aves que tenham sido vacinadas com Coxabic mostraram, aos 21 dias de idade, uma menor quantidade de oocistos na cama, indicando uma maior resistência à infecção pelas Eimerias. As aves vacinadas com Coxabic mostraram estar protegidas passivamente contra a coccidiose, devido à transferência dos anticorpos maternos, evidenciados na titulação destes.

O peso final das aves não foi alterado pelo tipo de vacina utilizado, apesar de aos 14 dias de idades, as aves vacinadas com Coxabic mostrarem-se mais pesadas. Paracox produz uma maior lesão intestinal, se comparada a vacina Coxabic.

O DPS é eficiente na diminuição da lesão intestinal, sendo que o efeito foi mais pronunciado nas aves que receberam a Paracox.

O DPS melhorou o peso dos animais e a conversão alimentar aos 45 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, P. C.; FETTERER, R. H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. Clinical Microbiology Reviews. V. 15. N. 1. P. 58-65, 2002.
- BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal : FUNEP / UNESP, 2002.
- COOPAVEL. Manual de Resultados Frangos de Corte Coopavel. Cascavel, julho de 2005.
- COSNES, J.; EVARD, D.; BEAUGERIE, L.; GENDRE, J. P.; LE QUINTREC, Y. Improvement in protein absorption with a small-peptide-based diet in patients with jejunostomy. Nutrition, Vol. 8. p. 406. 1992.
- CRITTER, R. B. de O. Sorologia na monitoria do sistema Coxabic. 1º Seminário Novartis Coxabic. P. 27-35. Foz do Iguaçu, Brasil, 2005. Anais.
- FRENHANI, P. B.; BURINI, R. C. Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídios: controle e implicações na dietoterapia humana. Arg. Gastroenterol. V. 36. p. 227-237. 1999.
- HOERR, F. J. Pathogenesis of Enteric Diseases. Poultry Science. V. 77. p. 1150-1155. 1998.
- INFANTE, J. L. Z.; CAHU, C. L.; PERES, A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in Sea Bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. J. Nutri. Vol. 127. P. 608-614. 1997.
- KAWAZOE, U. Coccidiose. In.: Doença das aves. Campinas : FACTA. 2000.
- LUQUETTI, B. C. Efeito da vacinação contra coccidiose aviária e da suplementação de glutamina ou prebiótico sobre a mucosa intestinal em frangos. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2005.
- MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In Conferência Apinco de ciência e tecnologia avícolas. P. 161-174. Anais. Campinas : Facta. 2000.
- MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal : FUNEP / UNESP. 2002.

- McBRIDE, B.W.; KELLY, J.M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: A review. Journal Animal Science. Vol. 68 p. 2997-3010. 1990.
- McCARTER, S. Immunity... an important part of coccidiosis management program (U.S. experience). Coopers do Brasil Ltda. Boletim Técnico.
- MICHAEL, A. Introdução ao conceito Coxabic. In: 1º seminário Novartis Coxabic. P. 9-14. Anais. Foz do Iguaçu. 2005.
- MIN, W.; DALLOUL, R. A.; LILLEHOJ, H. S. Application of biotechnological tools for coccidian vaccine development. Review. J. Vet. Sci. Vol. 5. p. 279-288. 2004.
- MORRIS, B. C. Intestinal mucosal mast cell immune response and pathogenesis of two *Eimeria acervulina* isolates in broiler chickens. Tese de Mestrado. Virginia Polytechnic Institute and State University. 2002. Disponível em: <http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-12172002-182647/unrestricted/Thesis.pdf>. Acessado em 12/08/2005.
- MORRIS, B. C.; DANFORTH, H. D.; CALDWELL, D. J.; PIERSON, F. W.; McELROY, A. P. Intestinal mucosal mast cell immune response and pathogenesis of two *Eimeria acervulina* isolates in broiler chickens. Poultry Science. V. 83. p. 1667 - 1674. 2004.
- PENZ JÚNIOR, A. M. Digestão e absorção de proteínas e aminoácidos. In: Fisiologia da digestão e absorção das aves. Campinas : Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. 1994.
- PERSIA, M. E.; YOUNG, E. L.; UTTERBACK, P. L.; PARSONS, C. M. Effects of dietary ingredients and *Eimeria acervulina* infection on chick performance. apparent metabolizable energy. and amino acid digestibility. Poultry science. Vol. 85. P. 48-55. 2006.
- PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J.; WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. Livestock Production Science. Vol. 51. P. 215-236. 1997
- RÉRAT, A.; NUNES, C. S. Amino acid absorption and production of pancreatic hormones in non-anaesthetized pigs after duodenal infusions of a milk enzymic hydrolysate or of free amino acid. British Journal of Nutrition. Vol. 60. p. 121-136. 1988.
- ROSE, M. E.; HESKETH, P. Immunity to coccidiosis: T-lymphocyte- or B-lymphocyte-deficient animals. Infection and immunity. V. 26. No. 2. P. 630-637. 1979.
- RUTZ, F. Proteínas: digestão e absorção. In: Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal : FUNEP / UNESP. 2002.

- SMITH, A. L. Intestinal immunology. coccidial immunity and enteric vaccination. Workshop at the national veterinary institute: Coccidial and clostridial infections in broiler chickens. Uppsala. 2000. Anais.
- SMITH, N. Base imunológica da coccidiose e base molecular da Coxabac.. In: 1º seminário Novartis Coxabac. P.15-22. Anais. Foz do Iguaçu. 2005
- SMITH, N. C.; WALLACH, M.; MILLER, C. M. D.; MORGENSTERN, R.; BRAUN, R.; ECKERT, J. Maternal transmission of immunity to *Eimeria maxima*: enzyme-linked immunosorbent assay analysis of protective antibodies induced by infection. Infection and Immunity. P. 1348-1357. 1994a.
- SMITH, N. C.; WALLACH, M.; MILLER, C. M. D.; BRAUN, R.; ECKERT, J. Maternal transmission of immunity to *Eimeria maxima*: Western Blot Analysis of protective antibodies induced by infection. Infection and Immunity. P. 4811-4817. 1994b.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. Poultry Science. V. 77 P. 75-82. 1998
- UNI, Z.. Vitamin A deficiency interferes with proliferation and maturation of cells in the chicken small intestine. British Poultry Science. Vol. 41. P. 410-415. 2000.
- XU, Z. R.; HU, C. H.; XIA, M. S.; ZHAN, X. A.; WANG, M. Q. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science. V. 82. p. 1030 - 1036. 2003.
- WALLACH, M.; SMITH, N.C.; PETRACCA, M.; MILLER, C. M.; ECKERT, J.; BRAUN, R. *Eimeria maxima* gametocyte antigens: potential use in a subunit maternal vaccine against coccidiosis in chickens. Vaccine. Vol. 13. P. 347-354. 1995
- WALLACH, M.; PILLEMER, G.; YARUS, S.; HALABI, A.; PUGATSCH, T.; MENCHER, D. Passive immunization of chickens against *Eimeria maxima* Infection with a monoclonal antibody developed against a gametocyte antigen. Infection and immunity. Vol. 58. No. 2. p. 557-562. 1990.
- WALLACH, M. The control of coccidiosis in chickens by maternal immunization. Workshop at the national veterinary institute: Coccidial and clostridial infections in broiler chickens. Uppsala. 2000. Anais.
- WEBB, K.E.; MATTHEWS, J. C.; DIRIENZO, C. B. Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives. J. Anim. Sci. Vol. 70. P. 3248-3257. 1992.
- WILLIAMS, R. B. Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chickens. International Journal of Parasitology. Vol. 28. P. 1089-1098. 1998.

- WILLIAMS, R. B. Progress towards anticoccidial vaccines for broiler chickens. Workshop at the national veterinary institute: Coccidial and clostridial infections in broiler chickens. Uppsala. 2000. Anais.
- WILLIAMS, R. B. Safety of the attenuated anticoccidial vaccine "Paracox" in broiler chickens isolated from extraneous coccidial infection. Vet. Res. Commun. Vol. 18. p. 189-198. 1994.
- ZIOMKO, I.; KARAMON, J.; CENCEK, T.; GORNOWICZ, E.; SKORACKI, A.; ASHASH, U. Prevention of broiler chick coccidiosis using the inactivated subunit vaccine Coxabic[®]. Bull Vet Inst Pulawy. Vol. 49. P. 299-302. 2005.