

Avaliação da arginina dietética sobre a resposta imunológica de frangos de corte imunizados contra a Doença de Gumboro

Jovanir Inês Müller Fernandes^{1*}, Daniela Dalla Rosa¹, Mayra Vissotto Ribeiro¹, Edna Tereza de Lima¹ e Nelson Luis Mello Fernandes²

¹Laboratório de Experimentação Avícola, Universidade Federal do Paraná, Rua Pioneiro, 215, 85950-000, Palotina, Paraná, Brasil. ²Laboratório de Diagnóstico Biotecnológico, Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: jimfernandes@ufpr.br

RESUMO. O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de Arginina (Arg) sobre a resposta imune humoral e o desenvolvimento dos órgãos linfoides de frangos de corte imunizados contra a Doença de Gumboro. Foram utilizados 640 pintos de corte, distribuídos aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (1. Controle, 2. Imunização, 3. Imunização + suplementação de L-Arg e 4. Suplementação de L-Arg.) e oito repetições de 20 aves cada. As aves dos tratamentos 3 e 4 foram imunizadas no 16º dia, contra a Doença de Gumboro (cepa intermediária plus). Amostras de soro das aves com 14, 21, 28 e 35 dias de idade foram analisadas por ELISA para detecção de título de anticorpos contra a Doença de Gumboro e nestas mesmas idades foi determinado o peso dos órgãos linfoides e a altura de pregas primárias do tecido linfóide da bolsa cloacal. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. A suplementação de Arg não contribuiu com a resposta imune dos frangos de corte imunizados contra a Doença de Gumboro. A falta de resposta à imunização pode ser atribuída à baixa virulência da cepa vacinal utilizada e à presença de vírus de campo.

Palavras-chave: aminoácido, doença infecciosa da Bursa de Fabrício, sistema imune, título de anticorpos, bolsa cloacal.

ABSTRACT. Assessment of arginine diet on the immune response of broilers immunized against Gumboro disease. The study was conducted to evaluate the effect of supplemental Arginine (Arg) on the humoral immune response and development of lymphoid organs of broiler chickens vaccinated against Gumboro disease. Six hundred and forty broilers were reared in a complete randomized design with four treatments (1. Control, 2. Immunization, 3. Immunization and supplementation of L-Arg, and 4. Supplemental L-Arg.) and eight replications of 20 birds each. Birds in treatments 3 and 4 were vaccinated at 16 days against Gumboro disease (intermediate plus strain). Serum samples from birds at 14, 21, 28 and 35 days old were analyzed by ELISA for detection of antibody titers against Gumboro disease, and at these same ages, lymphoid organ weight was determined and the height of the primary folds of lymphoid tissue in the cloacal bursa was measured. There was no significant difference ($p > 0.05$) among treatments. Arg supplementation did not improve the immune response of broilers immunized against Gumboro Disease. The lack of response to immunization may be attributed to the low virulence of the vaccine strain used and the presence of environmental virus.

Keywords: amino acid, infectious bursal disease, immune system, antibody titers, cloacal bursa.

Introdução

A Doença de Gumboro ou Doença Infecciosa da Bursa de Fabrício – DIB caracteriza-se por uma enfermidade aguda, altamente contagiosa, que acomete frangos de corte na fase de crescimento, nos quais a bolsa cloacal, órgão responsável pelo desenvolvimento do sistema imunológico das aves, é primariamente envolvida (ALLAN et al., 1972). É uma doença cosmopolita, que tem causado problemas sanitários na avicultura industrial, pela imunossupressão causada por

esta doença, que resulta em perdas econômicas consideráveis (SAPATS et al., 2006).

O controle da doença se resume em medidas de biossegurança, aliadas aos programas de vacinação, que podem ser definidos de duas formas: o primeiro consiste na proteção de aves jovens por meio da imunidade passiva, em que a vacinação das reprodutoras, no período pré-postura com vacinas oleosas, tem o objetivo de induzir altos e uniformes títulos de anticorpos maternos, protegendo os pintos contra infecções precoces no campo. O

segundo se baseia na vacinação da progênie com vacinas vivas, com o intuito de induzir adequada resposta imune ativa contra o vírus de campo de alta virulência durante a fase de criação dos frangos (NISHIZAWA et al., 2007).

Após o registro da presença de cepas mais virulentas da DIB em todo o mundo, por volta do ano de 2002, as vacinas mais leves aplicadas nos pintinhos têm se mostrado menos eficazes. Entretanto, os altos níveis de anticorpos maternos decorrentes dos programas vacinais utilizados nas matrizes podem interferir com a eficácia das vacinações na progênie com vacinas intermediárias. Por outro lado, vacinas atenuadas com menor número de passagens, ou seja, mais agressivas, que por serem imunossupressoras, podem, segundo Giambrone e Closser (1990), resultar em lesões na bolsa cloacal das aves vacinadas.

As reações observadas após a vacinação para outros agentes infecciosos são, geralmente, mais severas em aves acometidas pela DIB, além dos efeitos secundários que afetam negativamente os parâmetros produtivos dos lotes de frangos. Para evitar essa situação, substâncias adjuvantes ou imunomoduladoras, que possam ser facilmente administradas com a vacina, sem causar efeitos adversos e ampliar a resposta imune, estão sendo estudadas (GIAMBRONE; CLOSSER, 1990).

Há duas décadas, o aminoácido arginina (Arg) emergiu como importante modulador da imunidade e de processos fisiológicos. Este aminoácido, além de constituir peptídeos e proteínas em todos os organismos vivos, é precursor de muitos compostos nitrogenados que possuem importantes funções fisiológicas (TAYADE et al., 2006). Duas rotas do metabolismo da Arg são identificadas e conhecidas por terem efeitos imunomodulatórios diretos. A primeira refere-se à Arg que se converte à ornitina e gera poliaminas, as quais possuem papel-chave na divisão celular, síntese de DNA e regulação do ciclo celular. A segunda corresponde à síntese do óxido nítrico (NO), um radical livre altamente reativo, permeável às células e membranas que participa de vários processos celulares, incluindo a neurotransmissão e a imunidade. Altas concentrações de NO podem ser induzidas por uma variedade de estímulos inflamatórios como os lipopolissacarídeos de bactérias e citocinas. Essa rota é essencial para a atividade citotóxica de macrófagos (LE FLOC'H et al., 2004).

Humphrey e Kirk. (2005), ainda, relataram que a captação de Arg e lisina (Lys), pelo fígado e pela bolsa cloacal durante a resposta do sistema imune, é intensificada para a síntese de proteínas de resposta da fase aguda, indicando que os componentes

dietéticos são essenciais para o desenvolvimento dos órgãos linfoides e para uma resposta imune efetiva.

A Arg é considerada um aminoácido essencial para aves, principalmente na fase inicial, pelo fato de que o ciclo bioquímico da ureia não ser funcional em aves (AUSTIC; NESHEIM, 1971), as quais não podem sintetizar Arg 'de novo' e por isso são dependentes do fornecimento deste aminoácido nas dietas. Entre as espécies animais estudadas, as aves têm a mais alta exigência de Arg (BALL et al., 2007), que se deve, além da falta de síntese endógena, a alta taxa de deposição proteica pelo rápido crescimento das atuais linhagens de corte, além da interação metabólica entre Lys e Arg, em função da relação antagonista existente entre esses aminoácidos.

A finalidade deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de Arg sobre a resposta imune humoral e o desenvolvimento dos órgãos linfoides de frangos de corte imunizados contra a Doença de Gumboro.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental da Universidade Federal do Paraná – Campus Palotina. Todos os procedimentos de criação dos animais e de coleta de material biológico foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Federal do Paraná – Campus Palotina, tendo em vista que o ensaio experimental atendeu aos princípios éticos na experimentação animal, conforme preconiza o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Foram utilizados 640 pintos de corte, da linhagem Ross, machos, os quais foram alocados aleatoriamente de acordo com um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições de 20 aves cada. Os tratamentos foram compostos por: 1. Controle; 2. Imunização contra a Doença de Gumboro; 3. Imunização contra a Doença de Gumboro com suplementação de L-Arg e 4. Suplementação de L-Arg. Para obtenção dos tratamentos com suplementação de L-Arg, foi adicionado 1% de L-Arg à ração em substituição ao inerte (Caulim). As aves dos tratamentos 3 e 4 foram imunizados no 16º dia de idade, contra a Doença de Gumboro, cepa intermediária plus (Shering Plough Animal Health®).

O programa nutricional foi dividido em duas fases, uma inicial (1 a 21 dias) e outra de crescimento (22 a 42 dias). As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja (Tabela 1), de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as recomendações nutricionais propostas por Rostagno et al. (2005).

Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais dos frangos de corte no período inicial (1 a 21 dias) e crescimento (22 a 42 dias).

| Ingredientes (%) | Ração inicial | Ração crescimento |
|--|---------------|-------------------|
| Milho | 52,18 | 60,71 |
| Farelo de Soja | 39,34 | 30,06 |
| Óleo de Soja | 3,14 | 3,97 |
| Calcário | 0,98 | 1,02 |
| Fosfato Bicalcico | 2,09 | 1,98 |
| Inerte (Caulim)* | 1,00 | 1,00 |
| Sal Comum | 0,37 | 0,36 |
| Bicarbonato de Sódio | 0,09 | 0,11 |
| L-Lisina HCl 78% | 0,18 | 0,21 |
| DL-Metionina 98% | 0,29 | 0,22 |
| L-Treonina 98% | 0,04 | 0,04 |
| Premix vitamínico e mineral ^{1,2} | 0,30 | 0,30 |
| Valores calculados | | |
| Proteína bruta (%) | 22,50 | 19,00 |
| Energia Metabolizável (kcal kg ⁻¹) | 2949 | 3100 |
| Cálcio (%) | 1,00 | 0,97 |
| Fósforo Disponível (%) | 0,50 | 0,47 |
| Sódio (%) | 0,19 | 0,19 |
| Potássio (%) | 0,87 | 0,72 |
| Cloro (%) | 0,30 | 0,30 |
| Lisina Digestível (%) | 1,25 | 1,06 |
| AAST Digestível (%) | 0,89 | 0,75 |
| Treonina Digestível (%) | 0,80 | 0,68 |
| Arginina Digestível (%) | 1,45 | 1,18 |
| Mongin (Meq 100 g ⁻¹) | 228,22 | 192,72 |

*Substituído por L-Arg 99% (tratamentos 3 e 4). ¹Mistura Vitamínica (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 7.000.000,00 UI; Vit. D3 2.200.000,00 UI; Vit.E 11.000,00 mg; Vit. K3 1.600,00 mg; Vit. B1 2.000,00 mg; Vit. B2 5.000,00 mg; Vit. B12 12.000,00 mg; Niacina 35.000,00 mg; Ácido Pantotênico 13.000,00 mg; Ácido Fólico 800,00 mg; Antioxidante 100.000,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g. ²Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 10.000,00 mg; Cobre 16.000,00 mg; Iodo 2.400,00 mg; Zinco 100.000,00 mg; Manganês 140.000,00 mg; Selênio 400,00 mg; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

Aos 14, 21, 28 e 35 dias de vida, todas as aves de cada unidade experimental e as sobras de ração foram pesadas, para a determinação do ganho de peso corporal, consumo de alimento e conversão alimentar.

No 14º dia de vida, antes da vacinação, e no 21º, 28º e no 35º foram coletadas amostras de sangue de duas aves por repetição e o soro congelado. Nas amostras de soro foi avaliada a titulação de anticorpos vacinais contra o vírus da Doença de Gumboro, pelo teste imunoenzimático (ELISA), utilizando o kit comercial ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) do Laboratório Idexx® e os dados obtidos foram de absorbância.

Também aos 14, 21, 28 e 35 dias de vida, uma ave por unidade experimental foi sacrificada por deslocamento cervical. Posteriormente, as aves foram pesadas individualmente e removidos os órgãos linfoides (bolsa cloacal e timo). O peso dos órgãos linfoides foi obtido, imediatamente, após a coleta e a remoção dos tecidos exógenos. O peso relativo de cada órgão foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\text{Peso relativo} = (\text{peso órgão/peso vivo}) \times 100$$

Para a medida histomorfométrica, a bolsa cloacal foi fixada em solução de Bouin e posteriormente inclusa em parafina. Após a obtenção de cortes no

centro do órgão com cinco micrômetros de espessura, as lâminas contendo os cortes histológicos foram coradas pelo método da hematoxilina e eosina (HE), escaneadas e levadas ao analisador de imagens. Para a leitura das imagens, foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 5.2, da Midia Cibertecnics. Foi mensurada a altura de três pregas primárias do tecido linfóide da bolsa cloacal de cada repetição (8 aves por tratamento) e destes valores foi obtida a média.

Os dados de titulação de anticorpos avaliados por ELISA foram transformados em log10. A avaliação estatística dos dados foi feita por análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG versão 8.0 (SAEG, 1999).

Resultados e discussão

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos para nenhuma variável avaliada (Tabela 2). Provavelmente, o fato das aves vacinadas com vacina intermediária e não-vacinadas deste experimento apresentarem títulos de anticorpos semelhantes, após a vacinação aos 16 dias, se deve à presença de cepas variantes no ambiente onde as aves foram criadas. As cepas variantes têm sido identificadas (BERG, 2000) e é importante destacar que em alguns lotes, a maioria das cepas encontradas nas amostras recebidas para o diagnóstico corresponde a este tipo de cepa. As cepas do vírus que atuam sobre o sistema imunológico dos frangos variam em sua patogenicidade, se encontrando desde cepas vacinais clássicas, que não causam doença, até cepas muito virulentas, que têm a capacidade de produzir porcentagens variáveis de mortalidade, dependendo da imunidade e da idade das aves, quando se atingem as condições do meio ambiente. Também estão presentes as cepas variantes do vírus de Gumboro, que geralmente não causam mortalidade, mas que induzem atrofia severa da bolsa cloacal, que se traduz em menor quantidade de linfócitos e, portanto, menor reação do sistema imunológico da ave (GIAMBRONE; CLOSSER, 1990).

Foi observado neste experimento que houve persistência acima do esperado dos anticorpos maternos. A sorologia antes da vacinação foi feita aos 14 dias e observou-se, nesta data, que o título de anticorpos maternos se mantinha bastante elevado e, por isso, podem ter sido neutralizados pela aplicação da vacina na progênie. Assim, como o agente vacinal, ou de campo, não desenvolveu sintomas ou lesões, com a consequente perda da saúde e rendimento das aves, o nível de Arg dietético necessário para o desempenho das aves foi suficiente para atendimento do sistema imune em fase de ativação.

Tabela 2. Peso vivo, peso relativo de timo e bolsa, absorbância do ELISA e altura de pregas primárias do tecido linfóide da bolsa cloacal de frangos de corte aos 14, 21, 28 e 35 dias de idade.

| Tratamentos | Peso vivo, g | Timo, % | Bolsa cloacal, % | Absorbância do ELISA | Prega bolsa cloacal, mm |
|--------------------|---------------|--------------|------------------|----------------------|-------------------------|
| 14 dias | | | | | |
| Controle | 440 ± 63,60 | 0,080 ± 0,02 | 0,298 ± 0,08 | 3,17 ± 0,27 | 9,40 ± 1,39 |
| Imunização | 471 ± 42,30 | 0,081 ± 0,01 | 0,257 ± 0,08 | 3,2 ± 0,24 | 8,58 ± 0,36 |
| Imunização + L-Arg | 483 ± 32,07 | 0,079 ± 0,02 | 0,279 ± 0,05 | 3,1 ± 0,28 | 8,94 ± 0,84 |
| L-Arg | 467 ± 41,81 | 0,072 ± 0,01 | 0,254 ± 0,06 | 3,29 ± 0,21 | 9,23 ± 1,25 |
| CV, % | 3,29 | 4,24 | 4,92 | 7,99 | 11,22 |
| P | NS | NS | NS | NS | NS |
| 21 dias | | | | | |
| Controle | 964 ± 71,77 | 0,092 ± 0,02 | 0,314 ± 0,14 | 2,39 ± 0,43 | 11,54 ± 1,51 |
| Imunização | 1056 ± 51,79 | 0,081 ± 0,02 | 0,251 ± 0,04 | 2,68 ± 0,41 | 12,32 ± 1,60 |
| Imunização + L-Arg | 1088 ± 81,44 | 0,080 ± 0,01 | 0,329 ± 0,06 | 2,47 ± 0,50 | 12,06 ± 1,94 |
| L-Arg | 1035 ± 79,40 | 0,087 ± 0,02 | 0,346 ± 0,06 | 2,59 ± 0,24 | 12,43 ± 1,81 |
| CV, % | 3,29 | 4,24 | 4,92 | 16,30 | 13,62 |
| P | NS | NS | NS | NS | NS |
| 28 dias | | | | | |
| Controle | 1680 ± 152,87 | 0,085 ± 0,02 | 0,261 ± 0,08 | 2,31 ± 0,30 | 13,59 ± 3,40 |
| Imunização | 1794 ± 112,48 | 0,068 ± 0,02 | 0,244 ± 0,05 | 2,43 ± 0,40 | 12,97 ± 1,37 |
| Imunização + L-Arg | 1781 ± 97,00 | 0,068 ± 0,01 | 0,219 ± 0,06 | 2,41 ± 0,38 | 13,62 ± 3,19 |
| L-Arg | 1746 ± 87,21 | 0,071 ± 0,03 | 0,230 ± 0,03 | 2,36 ± 0,52 | 11,65 ± 2,05 |
| CV, % | 3,29 | 4,24 | 4,92 | 16,79 | 20,86 |
| P | NS | NS | NS | NS | NS |
| 35 dias | | | | | |
| Controle | 2275 ± 147,71 | 0,063 ± 0,01 | 0,262 ± 0,07 | 2,69 ± 0,41 | 13,86 ± 3,07 |
| Imunização | 2460 ± 176,36 | 0,068 ± 0,04 | 0,202 ± 0,03 | 2,62 ± 0,52 | 13,90 ± 3,09 |
| Imunização + L-Arg | 2454 ± 127,04 | 0,063 ± 0,02 | 0,232 ± 0,04 | 2,70 ± 0,51 | 12,86 ± 2,81 |
| L-Arg | 2453 ± 135,11 | 0,058 ± 0,01 | 0,207 ± 0,04 | 2,80 ± 0,36 | 12,09 ± 2,64 |
| CV, % | 3,29 | 4,24 | 4,92 | 16,68 | 21,56 |
| P | NS | NS | NS | NS | NS |

NS: não significativo ($p > 0,05$).

Independente da falta de resposta à vacinação, não foi observado efeito da suplementação de L-Arg, apesar de a mesma estar envolvida em diferentes componentes do sistema imunológico. Este resultado difere do observado por outros autores. Tayade et al. (2006) demonstraram que a resposta vacinal contra o vírus da Doença de Gumboro de frangos suplementados com 2% de Arg foi 20% mais eficiente que a resposta induzida apenas pela vacina sem adição de Arg. A elevada resposta humoral e a proteção observada no grupo de aves vacinadas e que recebeu a suplementação de Arg na dieta, segundo estes autores, pode ser atribuída ao número de funções imunorregulatórias da Arg sobre o sistema imunológico.

A Arg é necessária para a diferenciação das células B e também está envolvida na liberação destas células da bolsa cloacal ou da medula óssea (DE JONGE et al., 2002). Ainda, segundo Abdukalykova e Ruiz-Feria (2006), níveis adicionais de Arg podem acelerar a produção de anticorpos em frangos de corte. Por outro lado, a resposta imune humoral das aves pode ser afetada pela suplementação de Arg apenas em longo prazo. Deng et al. (2005) observaram aumento no título de anticorpos contra hemácias de carneiro, somente após quatro semanas do fim da suplementação de Arg na dieta de frangos de postura.

Outro aspecto a ser considerado, no metabolismo da Arg, é a competição da arginase e a óxido nítrico sintetase pela Arg como um substrato comum, mas que é preferencialmente degradada pela via da arginase I, o que pode levar à redução na síntese de NO pelos

leucócitos (WU; MORRIS JR., 1998). Neste sentido, a suplementação adicional de Arg nas dietas de aves imunocomprometidas poderia aumentar ainda mais a atividade da arginase, e, com isso, menos Arg seria disponível para a síntese de NO (KEPKA-LENHART et al. 2000). Alternativamente, Bansal et al. (2004) sugerem como estratégia dietética para restaurar as concentrações plasmáticas de Arg, a suplementação de citrulina, principalmente em condições de imunodeficiência associadas com elevada atividade plasmática da arginase. A citrulina é um aminoácido que não é encontrado em nenhuma proteína corporal, além da inabilidade das aves na síntese endógena de citrulina, a suplementação dietética se constitui na única fonte de Arg para os macrófagos, via ciclo NO-citrulina (WIESINGER, 2001).

Corzo e Kidd (2003) atribuem a exigência mais elevada em Arg, na fase inicial de vida dos frangos de corte, ao desenvolvimento do sistema imune. A Arg estimula a liberação de hormônios, como o hormônio do crescimento, insulina e glucagon, os quais podem aumentar a síntese proteica e a eficiência alimentar. Outro mecanismo inclui à formação de ornitina um precursor das poliaminas, as quais estão envolvidas na síntese de DNA e na proliferação celular e ainda no aumento da formação de NO e na alteração da liberação de citocinas (DENG et al., 2005; KAWAK et al., 1999; LE FLOC'H et al., 2004).

A suplementação com Arg reduziu os efeitos imunossupressores da vacina em outros experimentos. A julgar por estes resultados apontados na literatura consultada, a Arg tem potencial para ser considerada

uma substância imunomoduladora segura, pouco dispendiosa e de fácil administração. Entretanto, mais estudos devem ser desenvolvidos para que, efetivamente, possa ser incluída aos programas de vacinação.

Conclusão

A falta de resposta à imunização pode ser atribuída à baixa virulência da cepa vacinal utilizada e à presença de vírus de campo que interferiu na avaliação da resposta imune das aves. A suplementação de Arg não contribuiu com a resposta imune dos frangos de corte vacinados contra a Doença de Gumboro.

Referências

- ABDUKALYKOVA, S.; RUIZ-FRIA, C. Arginine and vitamin E improve the cellular and humoral immune response of broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 2, p. 121-127, 2006.
- ALLAN, W. H.; FARAGHER, J. T.; CULLEN, G. A. Immunossuppression by the infectious bursal agent in chickens immunized against Newcastle disease. **Veterinary Record**, v. 90, n. 18, p. 511-512, 1972.
- AUSTIC, R. E.; NESHEIM, M. C. Arginine, ornithine and proline metabolism of chicks: Influence of diet and heredity. **Journal of Nutrition**, v. 101, n. 10, p. 1403-1413, 1971.
- BALL, R. O.; URSCHER, K. L.; PENCHARZ, P. B. Nutritional consequences of interspecies differences in arginine and lysine metabolism. **Journal of Nutrition**, v. 137, n. 6, p. 1626-1641, 2007.
- BANSAL, V.; RODRIGUEZ, P.; WU, G.; EICHLER, D. C.; ZABALETA, J.; TAHERI, F.; OCHOA, J. B. Citrulline can preserve proliferation and prevent the loss of CD3 z chain under conditions of low arginine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 28, n. 6, p. 423-430, 2004.
- BERG, T. P. Van den. Acute infectious bursal disease in poultry: A review. **Avian Pathology**, v. 29, n. 3, p. 175-194, 2000.
- CORZO, A.; KIDD, M. T. Arginine needs for chick and growing broiler. **International Journal of Poultry Science**, v. 2, n. 2, p. 379-382, 2003.
- DE JONGE, W. J.; KWIKKERS, K. L.; TE VELDE, A. A.; DEVENTER, S. J. H. Van; NOLTE, M. A.; MEBIUS, R. E.; RUIJTER, J. M.; LAMERS, M. C.; LAMERS, W. H. Arginine deficiency affects early B cell maturation and lymphoid organ development in transgenic mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 110, n. 10, p. 1539-1548, 2002.
- DENG, K.; WONG, C. W.; NOLAN, J. V. Long-term effects of early life L-arginine supplementation on growth performance, lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. **British Poultry Science**, v. 46, n. 3, p. 318-324, 2005.
- GIAMBRONE, J. J.; CLOSSER, J. Efficacy of live vaccines against serologic subtypes of infectious bursal disease virus. **Avian Disease**, v. 34, n. 1, p. 7-11, 1990.
- HUNPHREY, B. D.; KIRK, K. C. The acute phase response alters cationic amino acid transporter expression in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 142, n. 4, p. 485-494, 2005.
- KAWAK, H.; AUSTIC, R. E.; DIETERT, R. R. Influence of dietary arginine concentration on lymphoid organ growth in chickens. **Poultry Science**, v. 78, n. 11, p. 1536-1541, 1999.
- KEPKA-LENHART, D.; MISTRY, S. K.; WU, G.; MORRIS, S. M. Arginase I: a limiting factor for nitric oxide and polyamine synthesis by activated macrophages? **American Journal of Physiology**, v. 279, n. 6, p. 2237-2242, 2000.
- LE FLOCH, N.; MELCHIOR, D.; OBLED, C. Modification of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. **Livestock Production Science**, v. 87, n. 1-2, p. 37-45, 2004.
- NISHIZAWA, M.; PAULILLO, A. C.; BERNARDINO, A.; ALESSI, A. C.; SAYD, S.; OKADA, L. S. N.; DORETTO JUNIOR, L. Evaluation of anatomopathological, serological, immunological responses and protection in broilers vaccinated with live infectious bursal disease vaccines. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 219-226, 2007.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005.
- SAEG-Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. **Versão 8.0**. Viçosa: UFV, 1999. (Manual do usuário, p. 138).
- SAPATS, S. I.; TRINIDAD, L.; GOULD, G.; HEINE, H. G.; BERG, T. P. Van den; ETERRADOSSI, N.; JACKWOOD, D.; PAREDE, L.; TOQUIN, D.; IGNJATOVIC, J. Chicken recombinant antibodies specific for very virulent infectious bursal disease virus. **Archives of Virology**, v. 151, n. 8, p. 1551-1566, 2006.
- TAYADE, C.; JAISWAL, T. N.; MISHRA, S. C.; MADHURI, K. L-Arginine stimulates immune response in chickens immunized with intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. **Vaccine**, v. 24, p. 552-560, 2006.
- WIESINGER, H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 64, n. 4, p. 365-391, 2001.
- WU, G.; MORRIS JR., S. M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **Biochemical Journal**, v. 336, p. 1-17, 1998.

Received on March 21, 2010.

Accepted on October 20, 2010.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.