

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA  
FILHO FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E  
IMUNOLÓGICOS EM MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE  
VACINADAS OU NÃO CONTRA A BRONQUITE  
INFECCIOSA DAS GALINHAS SUBMETIDAS A  
DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO**

**Miguel Frederico Fernandez Alarcon**

Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E  
IMUNOLÓGICOS EM MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE  
VACINADAS OU NÃO CONTRA A BRONQUITE  
INFECCIOSA DAS GALINHAS SUBMETIDAS A  
DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO**

**Miguel Frederico Fernandez Alarcon**

**Orientador: Prof. Dr. Renato Luis Furlan**

**Co-orientador: Prof. Dr. Hélio José Montassier**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL**  
Agosto de 2010

**Certificado de aprovação**

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**Miguel Frederico Fernandez Alarcon** – nascido na cidade de Santo André - SP, aos 18 de setembro de 1984, ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, campus de Jaboticabal em fevereiro de 2003, colando grau de Médico Veterinário em dezembro de 2007. Em março do ano seguinte iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da mesma instituição.

**“O amor e o desejo são as asas do espírito das  
grandes façanhas”**

**Johan Goethe**

Aos meus grandes mestres, **Andres Fernandez Alarcon e Olga Fernandez Sulis**, cujos esforços nunca foram medidos no decorrer desta jornada. Por seu amor, exemplo, esforço e incentivo constantes,

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

- . *Ao professor Renato Luis Furlan, pela valiosa amizade, incentivo e ensinamentos durante todos os anos de convivência*
- . *Ao meu co-orientador Hélio José Montassier pelo apoio e oportunidade*
- . *Aos professores Angelo Berchieri Júnior e Isabel Cristina Boleli pelas correções, paciência e contribuição*
- . *Aos amigos e “parceiros de estrada” Bruno Serpa Vieira, Fernando Augusto de Souza, Juliana De Antonio, Karoll Andrea Alfonso Torres, Lílian Francisco Arantes de Souza, Lívia Pegoraro Espinha, Marcos Gonçalves de Souza e Wedson Carlos Lima Nogueira pelo companheirismo e auxílio em todos os momentos*
- . *Aos amigos Alessandra Hideko Sumitomo, André Marcos Santana, Camila Franciosi, Kleber Ormande Garcia e Rafael Antonio Casarin Penha Filho pelos ensinamentos e amizade*
- . *Aos funcionários Euclides Roberto Secato, Maria de Lourdes Feres Tamanini, Orandi Mateus e Renata Lemos Nagib Jorge pelo auxílio nos momentos de precisão*
- . *Às minhas irmãs Rosa Carina Fernandez Alarcon e Vera Fernandez Alarcon pelos conselhos e exemplos*
- . *À minha noiva Caroline Della Nina Pistoni por seu apoio, amor, carinho, e compreensão*
- . *À toda equipe do setor de Agropecuária da Perdigão Agroindustrial SA, unidade de Avós / SP, em especial aos membros Eduardo Loewen, Fabrício da Silva Delgado e Felipe Lino Kroetz Neto pelo apoio e oportunidade*
- . *À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pela Bolsa de Estudos e Auxílio à Pesquisa concedidos (processos n<sup>os</sup> 2008/52524-5 e 2008/54579-1).*

## SUMÁRIO

	Página
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>01</b>
Introdução.....	01
Revisão de literatura.....	01
Efeito do jejum hídrico-alimentar nas características produtivas e no desenvolvimento do trato digestório.....	01
Imunidade passiva em aves.....	04
Resposta imune contra o vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas.....	05
Efeito do jejum hídrico - alimentar sobre as características hematológicas.....	07
Objetivos gerais .....	08
Referências .....	09
<b>CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS PROMOVIDAS POR DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO EM MATRIZES DE CORTE NEONATAS VACINADAS OU NÃO CONTRA A BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS: DESEMPENHO, DESENVOLVIMENTO DE VÍSCERAS, PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS E CONTAGEM DE CÉLULAS CALICIFORMES DO INTESTINO DELGADO.....</b>	<b>16</b>
Resumo.....	16
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	21
Período pré-experimental.....	21
Período experimental.....	22
Resultados.....	26
Discussão.....	45
Conclusões.....	60



Referências.....	61
<b>CAPÍTULO – 3</b> RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MATRIZES NEONATAS, VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA BIG SUBMETIDAS A DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO.....	67
Resumo.....	67
Introdução.....	68
Material e Métodos.....	72
Período pré-experimental.....	72
Período experimental.....	73
Resultados.....	76
Discussão.....	91
Conclusões.....	103
Referências .....	104
<b>CAPÍTULO – 4</b> COMPORTAMENTO SOROLÓGICO DE MATRIZES NEONATAS, VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA a BIG, SUBMETIDAS A DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO.....	111
Resumo.....	111
Introdução.....	112
Material e Métodos.....	115
Período pré-experimental.....	115
Período experimental.....	116
Resultados.....	120
Discussão.....	125
Conclusões.....	128
Referências.....	129

<b>CAPÍTULO – 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>133</b>
--	------------

## ABREVIATURAS

µL	Microlitro
µm	Micrômetro
A/P	Amostra/positivo
AB	Alcian blue
AVD	Altura dos vilos do duodeno
AVI	Altura dos vilos do íleo
AVJ	Altura dos vilos do jejuno
CA	Conversão alimentar
CAP	Concentração de albumina plasmática
CCCD	Contagem de células calciformes do duodeno
CCCI	Contagem de células calciformes do íleo
CCCJ	Contagem de células calciformes do jejuno
CGLP	Concentração de globulina plasmática
CGP	Concentração de glicose plasmática
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
ConA	Concanavalina A
CPP	Concentração de proteína plasmática total
CR	Consumo de ração
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DIE	Dose infectante embrionária
DO	Densidades ópticas
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
GLM	“General linear models”
GP	Ganho de peso
H/L	Relação heterófilo/linfócito
H120	Holland 120
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCT	Taxa de hematócrito
HGB	Dosagem de hemoglobina
IBV	“Infectious bronchitis virus”
Ig	Imunoglobulinas
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
J	Jejum pós-eclosão
LA	Líquido alantóide
LPD	Leite em pó desnatado
M41	Massachussets 41
PAS	Ácido periódico de Shiff
PBS	Solução tamponada salina

PBSt	Solução tamponada salina acrescida de “tween”
PCD	Profundidade de cripta do duodeno
PCI	Profundidade de cripta do íleo
PCJ	Profundidade de cripta do jejuno
Pd	Peso da ave no dia da coleta
Pn	Peso da ave ao nascimento
RBC	Contagem global de hemácias
S-ELISA-ConA	“Sandwich-ELISA-Concanavalina A”
SPF	“Specific pathogen free”
V	Vacina
VBIG	Vírus da bronquite infecciosa das galinhas
VCM	Volume corpuscular médio
Vd	Peso da víscera no dia da coleta
Vn	Peso da víscera ao nascimento
ELISA	“Enzyme Linked Immunosorbent assay”

**ALTERAÇÕES DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS EM  
MATRIZES DE FRANGOS DE CORTE VACINADAS OU NÃO CONTRA A  
BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS SUBMETIDAS A DIFERENTES  
PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO**

**RESUMO** – Foram avaliados parâmetros fisiológicos e imunológicos de matrizes de corte vacinadas ou não contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), submetidas a diferentes períodos de jejum após a eclosão, seguido de alimentação até a terceira semana de vida. No Capítulo 2, encontram-se os resultados do desempenho zootécnico e o desenvolvimento de órgãos gastrintestinais. No Capítulo 3, estão descritos os resultados de parâmetros hematológicos e bioquímicos. O Capítulo 4 apresenta as cinéticas de decaimento dos anticorpos maternos e os perfis cinéticos da resposta imune humoral nos compartimentos local e sistêmico. A vacina contra a BIG influenciou parâmetros de desempenho, de morfometria intestinal, o hematócrito, parâmetros bioquímicos, percentuais de heterófilos e linfócitos e induziu a resposta imune humoral na secreção lacrimal. O jejum pós-eclosão prolongado seguido de alimentação influenciou negativamente o desempenho, o desenvolvimento das vísceras gastrintestinais, as variáveis bioquímicas, imunológicas e a maioria das variáveis hematológicas. Os dados indicam que períodos de jejum pós-eclosão superiores a 48 h devem ser evitados, pois ao afetar negativamente parâmetros hematológicos, intestinais e imunológicos, podem comprometer o crescimento das matrizes e inferir negativamente sobre sua resposta imune. No entanto, o jejum moderado pode favorecer a resposta imune vacinal.

**Palavras-Chave:** Bronquite infecciosa das galinhas, hematologia, jejum pós-eclosão, matrizes, trato gastrintestinal, vacina

**CHANGES OF PHYSIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN  
BROILER BREEDER VACCINATED OR NOT AGAINST INFECTIOUS  
BRONCHITIS OF CHICKENS SUBMITTED TO DIFFERENT PERIODS OF FASTING  
AFTER HATCHING**

**SUMMARY** – Immunological and physiological parameters were evaluated in broiler breeder vaccinated or not against infectious bronchitis virus (IBV), submitted to different periods of fasting post-hatching, followed by feed until the third week of life. In Chapter 2, are the results of zootechnical performance and development of gastrointestinal organs. The Chapter 3 describes the results of hematological and biochemical parameters of blood. Chapter 4 presents the kinetics of decay of maternal antibodies and the kinetic profiles of humoral immune response in local and systemic compartments. The IBV vaccine influenced parameters of performance, intestinal morphology, hematocrit, biochemical parameters, percentage of heterophils and lymphocytes, and induced humoral immune response in tear secretion. Prolonged fasting post-hatching, followed by feeding, negatively affected the performance, the development of gastrointestinal organs, biochemical variables, immunological and the most of hematological variables. The data indicate that periods of fasting post-hatching over 48 h should be avoided as they adversely affect the hematological, gastrointestinal and immunologic, may compromise the growth of broiler breeder and infer a negative effect on their immune response. However, moderate fasting can promote the immune response vaccine.

**Key-words:** broiler breeder, fasting, hematology, infectious bronchitis, small intestine, vaccination

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **Introdução**

A produção brasileira de carne de frango vem se consolidando ao longo das últimas décadas como uma das mais competitivas do mundo. Paralelamente, observou-se no período grande crescimento na demanda nacional e internacional pela carne de aves com qualidade sanitária, nutricional e que respeite conceitos de bem-estar animal, além de questões sócio-ambientais e de saúde pública. Neste contexto, visando à consolidação de importantes mercados e a participação crescente em mercados de consumo cada vez mais exigentes, torna-se imperioso adequar-se às normas internacionais de bem-estar animal, melhorar índices de produtividade, bem como a condição imunitária das aves. Parte destas adequações envolve tanto, reduzir o tempo de jejum que as matrizes neonatas são submetidas no intervalo entre o seu nascimento em incubatórios comerciais e o seu alojamento em granjas de recria, como beneficiar sua capacidade de responder a agentes infecciosos durante suas primeiras semanas de vida. Em algumas situações, observa-se que devido à grande distância entre o incubatório e a granja, as matrizes são submetidas a um longo período de jejum. Esta circunstância pode influenciar negativamente o desenvolvimento do trato gastrintestinal, bem como parâmetros hematológicos e os bioquímicos. Desta forma, a matriz pode apresentar queda nos parâmetros produtivos, tanto de forma direta, por “déficit” nutricional, como de forma indireta, não apresentando uma resposta imune satisfatória frente à patógenos, como o vírus da bronquite infecciosa das galinhas.

### **Revisão de Literatura**

Efeito do jejum hídrico-alimentar nas características produtivas e no desenvolvimento do trato digestório

Matrizes neonatas são submetidas a longos períodos de jejum no intervalo entre o seu nascimento em incubatórios comerciais e o seu alojamento em granjas de recria.

Embora estudos sobre jejum hídrico-alimentar em matrizes sejam escassos, sabe-se que em frangos de corte o período de jejum pós-eclosão exerce forte influência sobre o desempenho produtivo (NOY; SKLAN, 1999; NOY; GEYRA; SKLAN, 2001; GONZALES et al., 2003; HAVELY et al., 2003; UNI; SMIRNOV; SKLAN., 2003). Além dos efeitos adversos do jejum sobre o desempenho, a exposição prolongada ao ambiente interno do nascedouro pode levar os pintainhos a um quadro de cetose momentânea e desidratação (VIEIRA; MORAN, 1999). Em incubatórios comerciais de avozeiros é comum a transferência dos ovos férteis das incubadoras para os nascedouros entre o 18º e o 19º dia de incubação, embora cerca de 70% dos nascimentos só ocorram nas 12 horas iniciais do 21º dia. Por questões de logística e de garantia de melhor eficiência nas operações de expedição, os pintainhos são retirados de uma só vez dos nascedouros ao final do 21º dia de incubação. Assim, parcela considerável dos pintainhos eclodidos já se encontra em jejum hídrico-alimentar por períodos superiores a 12 horas no momento da abertura das máquinas (FERNANDEZ-ALARCON, 2007). Devemos destacar ainda que além das horas de jejum a que os pintainhos são submetidos enquanto aguardam sua retirada da máquina, somam-se as horas adicionais gastas nos procedimentos de seleção, sexagem, vacinação, despacho, e percurso entre o incubatório e a granja.

Neste contexto, sabe-se que o tempo que as aves ficam em jejum até o alojamento pode determinar prejuízos no desempenho de frangos de corte. Neste sentido, Nir e Levanon (1993) relataram atraso equivalente a 1 e 2 dias de ganho de peso, respectivamente, em frangos submetidos a 24 e 48 horas de jejum pós-eclosão. Tal resposta tem sido justificada pelo menor grau de maturação do trato digestório observado em aves submetidas ao jejum hídrico-alimentar, evidenciado especialmente no desenvolvimento da mucosa intestinal. O epitélio intestinal é particularmente afetado pela ausência de alimento, sendo a altura dos vilos do duodeno significativamente reduzida em aves expostas ao jejum de apenas 24 horas (YAMAUCHI; KAMISOYAMA; ISSHIKI, 1996).

Quando ocorre a eclosão, o sistema digestório está anatomicamente completo (OVERTON; SHOUP, 1964; CHAMBERS; GREY, 1979), mas sua capacidade de digestão e absorção, quando comparada com a de aves adultas, é reduzida. Para



atingir seu máximo potencial funcional o trato gastrointestinal precisa passar por um processo de maturação, caracterizado por alterações morfofisiológicas no intestino e órgãos anexos. As alterações morfológicas baseiam-se principalmente no aumento da área de superfície disponível para digestão e absorção dos nutrientes e envolve aumento no comprimento do intestino, e na altura e densidade dos vilos e microvilos, o que ocorre devido a maiores taxas de mitose nos enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas (BARANYIOVA, 1972; BARANYIOVA; HOLMAN, 1976). Por outro lado, as alterações fisiológicas relacionam-se com o aumento na produção e atividade das enzimas digestivas pancreáticas e de membrana (NITSAN et al., 1991; NITSAN; DUNINGTON; SIEGEL, 1991) bem como no número de transportadores de membrana (SHEHATA, LERNER, MILLER, 1984). Em frangos de corte, o aumento na altura dos vilos e profundidade das criptas do duodeno, começam ainda *in ovo*, ocorrendo entre o 17º dia de incubação e o 7º dia pós-eclosão (UNI; GANOT; SKLAN, 1998).

Baranyiova e Holman (1976) observaram que a altura e o diâmetro dos vilos, o diâmetro do intestino delgado, bem como o *turnover* celular do epitélio intestinal de aves expostas ao jejum são significativamente reduzidos. Os autores afirmaram ainda que o jejum pós-eclosão não causa apenas alterações na morfologia do intestino, mas também prejudica a sua capacidade absorptiva. Ainda, sugere-se que um processo de autofagia celular possa ocorrer em aves expostas ao jejum (YAMAUCHI; KAMISOYAMA; ISSHIKI, 1996). Certamente a capacidade da ave em se recuperar das alterações histológicas e bioquímicas provocadas pelo jejum garante uma compensação ao seu desenvolvimento, no entanto, estas aves não expressarão todo o seu potencial produtivo. Sklan e Noy (2000) demonstraram que aves alimentadas logo após a eclosão aumentam a atividade de tripsina, amilase e lipase na mucosa intestinal e correlacionaram tais achados a maiores pesos corporais.

Logo após a eclosão, a maior parte dos nutrientes disponíveis à ave é direcionada para a maturação do trato gastrointestinal, principalmente do intestino delgado. Este desenvolvimento preferencial em relação a outros sistemas pode ser verificado tanto na presença como na ausência de alimento no lúmen intestinal, porém, quando os nutrientes necessários não são recebidos através da ração, os pintainhos

recém-eclodidos utilizam o saco vitelino como única fonte nutricional. No entanto, Mikec et al. (2006) propuseram que o período de jejum antes do alojamento também está relacionado com o tempo de absorção do saco vitelino. Neste sentido, Noy, Uni e Sklan (1996) sugeriram que a absorção do saco vitelino é mais rápida quanto mais cedo os pintainhos receberem água e ração, uma vez que o transporte da gema para o intestino pode ser aumentado pela maior atividade intestinal das aves alimentadas. Por outro lado, Murakami, Akiba e Horiguchi (1992) não observaram alteração na velocidade de absorção do saco vitelino em frangos submetidos a diferentes períodos de jejum logo após o nascimento.

A rota mais importante de absorção das imunoglobulinas maternas presentes na gema é a sanguínea, que ocorre acentuadamente no final do período da incubação (HAMAL et al., 2006). No entanto, a via intestinal também pode ser significativa após a eclosão, embora o potencial intestinal para absorção de macromoléculas intactas é reduzido gradativamente a partir do período final da incubação. Neste sentido, quanto mais rápida for a taxa de absorção do saco vitelino mais eficiente será a aquisição de imunidade passiva pelo pintainho por meio da absorção dos anticorpos maternos presentes na gema. Além disso, pintainhos em jejum tendem a degradar as imunoglobulinas vitelínicas e utilizá-las como nutrientes, no intuito de manter o balanço nutricional adequado para sua homeostasia (DIBNER et al., 1998). Estes mesmos autores observaram que 20% da proteína residual do saco vitelino são representados pelas imunoglobulinas maternas, porém sua digestão deve ser interpretada como um mecanismo de sobrevivência e não como uma rota metabólica normal.

#### Imunidade passiva em aves

A condição imunitária inicial de pintainhos depende da imunidade passiva, já que, em seus primeiros dias de vida, os mesmos não possuem respostas imunes efetivas frente aos principais patógenos (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A transferência de anticorpos da fêmea à sua progênie nos vertebrados ocorre através da placenta, colostro, leite, ou ovo (GRINDSTAFF et al., 2003). As aves transmitem anticorpos maternos à sua progênie transferindo anticorpos ao ovo (BRAMBELL, 1970). Existem 3 isotipos de imunoglobulinas nas aves, classificadas como IgG, IgA e IgM. Nos ovos, a

IgG está presente predominantemente no saco vitelínico (LESLIE; CLEM, 1969), enquanto IgA e IgM estão presentes no albúmen como resultado da secreção da mucosa do oviduto (ROSE; ORLANS; BUTTRESS, 1974).

Em aves, a transferência de IgG da matriz à sua progênie ocorre em duas etapas. Na primeira, as IgG provenientes da circulação do organismo materno são transportados para o interior da gema do ovo através de receptores de IgG no folículo ovariano (CUTTING; ROTH, 1973; LOEKEN; ROTH, 1983). Na segunda etapa, a IgG é transferida do saco vitelínico ao pintainho predominantemente através da circulação embrionária. Algumas pesquisas mostraram que ocorre aumento acentuado na transferência de IgG ao embrião no terço final da incubação (KRAMER; CHO, 1970; KOWALCZYK; HALPERN; ROTH, 1985). Por outro lado, há relatos que uma parcela de IgG é absorvida na mucosa intestinal do pintainho, nas suas primeiras horas de vida, de maneira semelhante à absorção de IgM e IgA (ROSE; ORLANS., 1981; LOEKEN; ROTH.,1983; KASPERS; BONDL; GOBEL, 1996). A transferência de imunoglobulinas do ovo à circulação embrionária inicia-se antes dos 7 dias da vida embrionária, sofre acréscimo, sendo sua concentração no sangue do embrião de 0,1mg/mL no 15º dia de incubação, chegando a 1,5mg/mL em aves recém nascidas (JEURISSEN; MARGA JENSE; KOCK, 1988).

Alem disso, Al-Natour et al. (2004) demonstraram que a quantidade de IgG transferida ao saco vitelínico é proporcional à concentração sorológica de IgG da matriz. Em face disso, acredita-se que eventuais perdas na absorção de imunoglobulinas maternas do saco vitelínico, comprometam a condição imunitária inicial dos pintainhos frente a vários patógenos dentre eles o vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas (VBIG).

#### Resposta imune contra o vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas

A Bronquite Infecciosa das Galinhas (BIG) é uma doença altamente infecciosa e de grande impacto econômico, causada pelo VBIG, um coronavírus (CAVANAGH; NAQI, 1997). Atualmente a BIG encontra-se disseminada praticamente em todas as regiões do mundo, inclusive no Brasil. O VBIG pode determinar lesões nas células epiteliais ciliadas da mucosa do sistema respiratório, principalmente em aves jovens,

resultando em alta morbidade e, em alguns casos, em alta mortalidade. O VBIg ainda pode comprometer outros órgãos como os rins e o trato reprodutor. Sua principal medida profilática é realizada através de vacinas vivas e ou inativadas (CAVANAGH; NAQI, 1997).

As vacinas vivas para BIG são administradas nos pintainhos através de “spray” ou água de bebida no primeiro dia de vida. Já a vacina inativada é aplicada por via subcutânea ou intramuscular antes do início de postura de ovos pelas matrizes (CAVANAGH; NAQI, 1997). A vacinação com vacinas vivas atenuadas resulta em proteção rápida após sua aplicação, que se deve principalmente aos sistemas imunológicos locais mediados por anticorpos e células imunológicas presentes na secreção lacrimal e nas mucosas oral, respiratória e digestiva (GELB; NIX; GELLMAN, 1998). Pesquisas demonstraram a presença de anticorpos específicos anti-VBIG no trato respiratório superior de galinhas e sugeriram que estes anticorpos seriam importantes na imunidade para a BIG (DAVELAAR; NOORDZIJ; DER DONK, 1982; LUTTICKEN; RIJKE; LOEFEN, 1987; MOCKETT; COOK; HUGGINS, 1987; TORO et al., 1993).

As vacinas inativadas contêm partículas de origem viral (VBIg) que perderam sua habilidade de se multiplicar e se espalhar pelo organismo, as quais induzem mais respostas imunes sistêmicas. Esta vacina via de regra é administrada com o objetivo de induzir uma imunidade de maior duração comparativamente à conferida pela vacina viva, bem como a transferência de uma maior quantidade de anticorpos contra o VBIg à progênie, os quais exercem papel importante na defesa contra o vírus, nas primeiras semanas de vida dos pintainhos. De acordo com Gelb (1989), anticorpos para VBIg podem ser detectados no soro e no trato respiratório de aves vacinadas através de vários testes sorológicos. Desta forma, a classe de anticorpos IgG, passados de galinhas vacinadas à progênie através do saco vitelínico, pode ser detectada no soro e no muco do trato respiratório de pintainhos neonatos (JUNGHERR; TERRELL, 1948; HAWKES et al., 1983). Foi demonstrado que tais anticorpos são capazes de conferir proteção para as aves neonatas contra o desafio com o VBIg, por até quatro semanas, dependendo do método usado para fazer o desafio e para avaliar o estado de proteção (DARBYSHIRE; PETERS, 1985). Por outro lado, Mockett, Cook e Huggins (1987)

concluíram que a duração da proteção seria de sete dias, utilizando pintainhos infectados por *E. coli*. Além disso, pintainhos com elevados níveis de anticorpos maternos para o VBIG, apesar de serem susceptíveis a reações pós-vacinais de VBIG atenuado, apresentam sinais clínicos e mortalidade diminuída comparativamente a pintainhos não detentores de bons títulos de anticorpos maternos (MOCKETT; COOK; HUGGINS, 1987; KLIEVE; CUMMING, 1988). Entretanto, é difícil conciliar o efeito protetor dos anticorpos maternos e o momento ideal de se fazer a primo-vacinação contra a BIG, pois vários estudos relatam que esses mesmos anticorpos interferem negativamente com o desenvolvimento de resposta ativa pós-vacinal, não obstante seja amplamente empregada a prática de vacinar os pintainhos com 1 dia de vida (GELB; NIX; GELLMAN, 1998, MONDAL; NAQI, 2001).

Em vista do exposto, torna-se importante investigar de forma mais aprofundada o efeito do jejum hídrico-alimentar sobre a absorção de imunoglobulinas maternas para a BIG, bem como sobre as respostas imunes sistêmicas (soro sanguíneo) e locais (secreção lacrimal) induzida pela imunização contra a BIG em matrizes.

#### Efeito do jejum hídrico-alimentar nas características hematológicas

Da eclosão até o alojamento, os pintainhos são submetidos a um período de jejum de aproximadamente 24 a 48 horas (HAGER; BEANE, 1983), que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e granja. O jejum pode ser um fator de estresse para os animais, os quais podem responder fisiologicamente com perda de peso corporal, elevação na razão heterófilo: linfócito (H:L) (GROSS; SIEGEL, 1986), elevação na concentração total de proteína plasmática (MANNING; WYATT; FLETCHER, 1990; BERRONG; WASHBURN, 1998), e glicose plasmática (BARTON; SCHRECK; BARTON, 1987). Neste sentido, a razão H:L tem sido considerada indicadora de estresse em vários estudos (GROSS; SIEGEL; DUBOUSE, 1980; DAVIDSON; FLACK, 1981; GROSS; SIEGEL, 1983; GONZALES et al., 2003; THRALL, 2004) e tem sido aplicada como critério de avaliação do desempenho na produção e reprodução de frangos (AL-MURRANI et al., 2006).

Várias pesquisas sugerem que aves em jejum apresentam concentrações elevadas de corticosterona e alterações nas células brancas do sangue, quando

comparadas com aves alimentadas *ad libitum*, parâmetros sugeridos como indicadores de estresse (HOCKING; MAXWELL; MITCHELL, 1993; HOCKING; MAXWELL; MITCHELL, 1996; KUBIKOVA; VYBOH; KOXTAI, 2001).

Tais alterações além de serem contrárias à nova tendência mundial de bem-estar animal interferem na resposta imune das aves submetidas ao jejum hídrico-alimentar. Casteel et. al. (1994) relataram que ao prolongar a incubação observam-se pintainhos desidratados, redução no desempenho produtivo dos frangos e queda na resposta imune.

Durante curto período de jejum, a concentração de glicose plasmática (CGP) é mantida pela glicogenólise hepática. No entanto, sob jejum prolongado pode ocorrer hipoglicemia (CAMPBELL, 2004). A concentração normal de proteínas plasmáticas é essencial à manutenção da pressão coloidosmótica normal que preserva o volume e o pH sanguíneos normais. Contudo, em frangos, hiperproteinemia pode ser estabelecida como resultado de desidratação, inflamação aguda ou crônica (CAMPBELL, 2004).

### **Objetivos gerais**

Frente ao exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar os efeitos da vacina, contra a bronquite infecciosa das galinhas (BIG), e do jejum pós-eclosão sobre parâmetros fisiológicos e imunológicos de matrizes pesadas no período inicial de criação.

## Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. Mecanismos efetores da imunidade humoral. In: PONTES, L. (Ed.) **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 580p.
- AL-MURRANI, W. K.; AL-RAWI, A. J.; AL-HADITHI, M. F.; AL-TIKRITI, B. Association between heterophil/lymphocyte ratio, a marker of resistance to stress, and some production and fitness traits in chickens. **British Poultry Science**, London, v.47, p.443–48, 2006.
- AL-NATOUR, M. Q.; WARD, L. A.; SAIF, Y. M.; STEWART, B.; KECK, L.D. Effect of different levels of maternally derived antibodies on protection against infectious bursal disease virus. **Avian diseases**, Kennett Square, v.48, p.177–182, 2004.
- BARANYIOVA, E. Influence of deutectomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.41, p.373-384, 1972.
- BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.45, p.151-158, 1976.
- BARTON, B.A.; SCHRECK, C. B.; BARTON, L. D. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. **Diseases of Aquatic Organisms**, Amelinghausen, v.2, p.173-185, 1987.
- BERRONG, S. L.; WASHBURN, K. W. Effects of genetic variation on total plasma protein, body weight gains, and body temperature responses to heat stress. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.379-385, 1998.
- BRAMBELL, F. W. R. **Transmission of immunity in birds from mother to young**. In: NEUBERGER, A.; TATUM, E. L. (Eds.) New York: Elsevier, 1970, p. 20-40.
- CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of birds. In: THRALL, M. A. (Ed.). **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.479- 492, 2004.

- CASTEEL, E. T., WILSON, J. L.; BUHR, R. J.; SANDER, J. E. The influence of extended posthatch holding time and placement density on broiler performance. **Poultry Science**, Champaign, v.73, p.1679–1684, 1994.
- CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W. (Ed.) **Diseases of poultry**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997, p.511-526.
- CHAMBERS, C.; GREY, R.D. Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine. **Cell Tissue Research**, Heidelberg, v.204, p.387-405, 1979.
- CUTTING, J. A.; ROTH, T. F. Changes in specific sequestration of protein during transport into the developing oocyte of the chicken. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.298, p.951–955, 1973.
- DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W.; Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus. **Research in Veterinary Science**, London, v.34, p.14-21, 1985.
- DAVELAAR, F. G.; NOORDZII, A.; AN DER DONK, J. A. A study on the synthesis and secretion of immunoglobulins by the Harderian gland of the fowl after eyedrop vaccination against infectious bronchitis at 1-day-old. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.11, p.63-79, 1982.
- DAVIDSON, T. F.; FLACK, I. H. Changes in the peripheral blood leucocyte populations following and injection of corticotropin in the immature chicken. **Research in Veterinary Science**, London, v.30, p.79-82, 1981.
- DIBNER, J.J; KNIGHT, C.D.; KITCHELL, M.L.; ATWELL, C.A.; DOWNS, A.C.; IVEY, F.J.; Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v.7, p.425-436, 1998.
- FERNANDEZ ALARCON, M. F. **Relatório Final de Estágio Curricular do Curso de Medicina Veterinária, realizado na Perdigão Agroindustrial S/A (Arceburgo-MG). Relato de caso: Lotes com desafio por Bronquite Infecciosa das Galinhas**. 2007. 96 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária)–Faculdade



de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

GELB, J. Jr. Infectious bronchitis. In: PURCHASE, H.G.; ARP, L.R.; DOMERMUTH, C.H.; PEARSON, J.E. (Ed.) **A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens**. 3rd ed. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists, 1989, p. 124-127.

GELB, J. Jr.; NIX, W.A.; GELLMAN, S.D. Infectious bronchitis virus antibodies in tears and their relationship to immunity. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.42, p.364-374, 1998.

GONZALES, E.; KONDO, N.; SALDANHA, E. S.; LODDY, M. M.; CAREGHI, C.; DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.1250-1256, 2003.

GRINDSTAFF, J. L.; BRODIE, E.D.; KETTERSON, E.D. Immune functions across generations: integrating mechanism and evolutionary process in maternal antibody transmission. **Proceedings Biological Sciences**, London, v.270, p.2309-2319, 2003.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S. Effects of initial and second periods of fasting on heterophil/lymphocyte ratios and body weight. **Avian diseases**, Kennett Square, v.30, p.345-346, 1986.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, kennett Square, v.27, p.972-979, 1983.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S.; DUBOUSE, R.T. Some effects of feeding corticosterone to chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.59, p.516-522, 1980.

HAGER, J. E.; BEANE, W. L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.62, p.247-254, 1983.

HAMAL, K. R.; BURGESS, S. C.; PEVZNER, I. Y.; ERF, G. F. Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chickens in meat lines of chicken. **Poultry Science**, Champaign, v.85, p.1364-1372, 2006.

HAVELY, O.; NADEL, Y.; BARAK, M.; ROSENBOIM, I.; SKLAN, D. Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poults. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.133, p.1376-1382, 2003.

- HAWKES, R. A.; DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W.; MOCKETT, A. P. A.; CAVANAGH, D. Presence of viral antigen and antibody in the trachea of chickens infected with avian infectious bronchitis virus. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.12, p.331-340, 1983.
- HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Relationships between the degree of food restriction and welfare indices in broiler breeder females. **British Poultry Science**, London, v.37, p. 263-78, 1996.
- HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Welfare assessment of broiler breeder and layer females subjected to food restriction and limited access to water during rearing. **British Poultry Science**, London, v.34, p.443-58, 1993.
- JEURISSEN, S.; MARGA JENSE, E.; KOCH, G. Meckel's diverticle: A gut associate lymphoid organ in chickens. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v.237, p.599-605, 1988.
- JUNGHERR, E. L.; TERRELL, N. L. Naturally acquired passive immunity to infectious bronchitis in chicks. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.9, p.201-205, 1948.
- KASPERS, B.; BONDL, GOBEL, T.W.F. Transfer of IgA from albumen into the yolk sac during embryonic development in the chicken. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, Berlin, v.43, p.225–231, 1996.
- KLIEVE, A. V.; CUMMING, R.B. Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.17, p.829-839, 1988.
- KOWALCZYK, J. D.; HALPERN, J.; ROTH, T. F. Quantification of maternal – fetal IgG transport in the chicken. **Immunology**, Oxford, v.54, p.755-762, 1985.
- KRAMER, T. T.; CHO, H. C. Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hens egg. **Immunology**, Oxford, v.19, p.157-167, 1970.
- KUBIKOVA, L.; VYBOH P.; KOXTAI, L. Behavioural, endocrine and metabolic effects of food restriction in broiler breeder hens. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.70, p.247– 257, 2001.

- LESLIE, G. A.; CLEM, W. L. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. 3. Immunoglobulins of the chicken. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v.130, p.1337–1352, 1969.
- LOEKEN, M. R.; ROTH, T. F. Analysis of maternal IgG subpopulations which are transported into the chicken oocyte. **Immunology**, Oxford, v. 49, p.21–28, 1983.
- LUTTICKEN, D. E.O.; RIJKE, E. O.; LOEFFEN, A. H. C. Systemic and local antibody responses in chickens after infection and vaccination with infectious bronchitis virus. **Progress in Clinical and Biological Research**, New York, v. 238, p.321-330, 1987.
- MANNING, R. O.; WYATT, R. D.; FLETCHER, O. J. Effect of cold acclimation on the broiler chicks resistance to dietary aflatoxin. **Poultry Science**, Champaign, v.69, p.915-921, 1990.
- MIKEK, M.; BIDIN, A.; VALENTIC, A.; SAVIC, V.; AMSELZELENIKA, T.; RAGUZ-DURIC, R.; NOVAK, I. L.; BALENOVIC, M.; Influence of environmental and nutritional stressors on yolk sac utilization, development of chicken gastrointestinal system and its immune status. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v.62, p.31-40, 2006.
- MOCKETT, A. P. A.; COOK, J. K. A.; HUGGINS, M. B. Maternally-derived antibody to infectious bronchitis virus: its detection in chick trachea and serum and its role in protection. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.16, p.407-416, 1987.
- MONDAL, S. P.; NAQI, S. A. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 79, p. 31-40, 2001.
- MURAKAMI, H.; AKIBA, Y.; HORIGUCHI, M. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal of residual yolk. **Growth Development and Aging**, Lakeland, v.56, p.75-84, 1992.
- NIR, I.; LEVANON, M. Effect of post-hatch holding time on performance and on residual yolk and liver composition. **Poultry Science**, Champaign, v.72, p. 1994-1997, 1993.
- NITSAN, Z.; BEM-AURAHAM, G.; ZOREF, Z., NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v.32, p.515-523,1991.

- NITSAN, Z.; DUNINGTON, E. A.; SIEGAL, P. B. Organ growth and digestive enzymes levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p.2040-2048, 1991.
- NOY, Y.; GEYRA, A.; SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, Champaign, v.80, p.912-919, 2001.
- NOY, Y.; UNI, Z.; SKLAN, D. Routes of yolk utilization in the newly-hatched chick. **Poultry Science**, Champaign, v.37, p.987-96, 1996.
- NOY, Y.; SKLAN, D. The effect of different types of early nutrition. **Journal Applied of Poultry Research**, Athens, v.8, p.16-24, 1999.
- OVERTON, J.; SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **The Journal of Cell Biology**, New York, v.21, p.75-82, 1964.
- ROSE, M. E.; ORLANS, E. Immunoglobulins in the egg, embryo and young chick. **Developmental and Comparative Immunology**, New York, v.5, p.15-20, 1981.
- ROSE, M. E.; ORLANS, E.; BUTTRESS, N. Immunoglobulin classes in the hen's egg: Their segregation in yolk and white. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v.4, p.521-523, 1974.
- SHEHATA, A.T.; LERNER, J.; MILLER, D.S. Development of nutrient transport system in chick jejunum. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v.246, p.G101-107, 1984.
- SKLAN, D.; NOY. Hydrolysis and absorption in the small intestines of post-hatch chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p.1309-1310, 2000.
- THRALL, M.A. **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518p.
- TORO, H.; LAVAUD, P.; VALLEJOS, P.; FERREIRA, A. Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.37, p.60-66, 1993.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Post-hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.75-82, 1998.

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effects of delayed access to feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p.320-327, 2003.

VIEIRA, S.L.; MORAN, E.T. Effects of egg of origin and chicks post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.55, p.125-142, 1999.

YAMAUCHI, K.; KAMISOYAMA, H.; ISSHIKI, Y. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in white leghorn hens. **British Poultry Science**, London, v.37, p.909-921, 1996.

## **CAPÍTULO 2 – RESPOSTAS PROMOVIDAS POR DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO EM MATRIZES DE CORTE NEONATAS VACINADAS OU NÃO CONTRA A BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS: DESEMPENHO, DESENVOLVIMENTO DE VÍSCERAS, PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS E CONTAGEM DE CÉLULAS CALICIFORMES DO INTESTINO DELGADO.**

**RESUMO** – O presente trabalho foi desenvolvido em matrizes de frangos de corte com o objetivo de avaliar os efeitos da vacina, contra a bronquite infecciosa das galinhas (BIG), e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão (0, 12, 24, 48 ou 72 h), sobre o desempenho zootécnico e o desenvolvimento de órgãos gastrintestinais na fase inicial de criação. Utilizou-se 720 matrizes que eclodiram em um intervalo pré-estabelecido de 8 h. As aves foram alojadas em câmaras climáticas e distribuídas em DIC em esquema fatorial 2 (vacinado ou não vacinado) X 5 período de jejum (0, 12, 24, 48, ou 72 h), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições de 18 aves. As aves vacinadas foram alojadas separadamente das não vacinadas. A vacinação foi realizada, após o alojamento, com vacina viva liofilizada contendo a amostra purificada H120 do VBIG. Após o término do período de jejum empregado em cada tratamento, as aves foram alimentadas *ad libitum*. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Matrizes submetidas ao jejum pós-eclosão, seguido de alimentação apresentaram alterações em todos os parâmetros analisados. Não ocorreu recuperação dos valores de consumo de ração, ganho de peso, crescimento alométrico do intestino e altura de vilos do íleo ao final de 21 dias de vida das aves. A vacina influenciou parâmetros de desempenho e de morfometria intestinal. Os dados indicam que jejum prolongado pós-eclosão deve ser evitado e que a vacina contra a BIG não prejudica o desempenho das aves ao final de 21 dias de criação.

**Palavras-Chave:** Bronquite infecciosa das galinhas, desempenho zootécnico, jejum pós-eclosão, matrizes, trato gastrintestinal, vacina

## Introdução

A qualidade e o manejo dos pintainhos até o alojamento são fatores determinantes de sua sobrevivência e de seu potencial de crescimento (CHRISTENSEN, 2001; CAREGHI et al., 2005). Atualmente, em incubatórios, o sistema de multi-estágios é amplamente difundido, inclusive em incubatórios destinados a produção de pintainhos matrizes. Nestes estabelecimentos, ovos de avós de diferentes idades, com diferentes pesos e períodos de estocagem, são incubados juntos, causando heterogeneidade dos ovos incubados, o que gera após a incubação pintainhos de diferentes qualidades (DECUYPERE; BRUGGEMAN, 2007). A heterogenia dos ovos de um lote a ser incubado também pode afetar o tempo total de incubação bem como ampliar da janela de eclosão (DECUYPERE; BRUGGEMAN, 2007).

A amplitude da janela de eclosão nos incubatórios comerciais situa-se entre 24 e 48 horas (DECUYPERE et al., 2001). Estes mesmos pesquisadores afirmaram que o tamanho da janela de eclosão afeta a magnitude do prejuízo devido à alimentação tardia. De acordo com Decuypere e Bruggeman (2007), dependendo do tamanho da janela de eclosão, da localização do nascimento dentro desta janela (inicial ou tardio), bem como da qualidade dos ovos incubados, período de estocagem, idade das matrizes e condições de incubação, são observados diferentes períodos entre a eclosão e a primeira alimentação dos pintainhos. Este período depende dos fatores já citados bem como das horas adicionais gastas nos procedimentos de seleção, sexagem, vacinação e despacho, e percurso entre o incubatório e a granja.

Neste sentido, Hager e Beane (1983) trabalhando com pintainhos de corte observaram que da eclosão até o alojamento, os pintainhos são submetidos a um período de jejum que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e granja. Segundo Decuypere e Bruggeman (2007) a duração do período compreendido entre a eclosão e a primeira alimentação pode afetar a absorção do vitelo e sua utilização, o desenvolvimento do trato gastrintestinal, o nível metabólico, o desenvolvimento do sistema imune, a absorção de IgG e de forma geral o crescimento dos pintainhos.

Embora estudos sobre jejum hídrico-alimentar em matrizes sejam escassos, em frangos de corte o período de jejum pós-eclosão exerce forte influência sobre o desempenho produtivo (NOY; SKLAN, 1999; NOY; GEYRA; SKLAN, 2001; GONZALES et al., 2003; HAVELY et al., 2003; UNI; SMIRNOV; SKLAN, 2003).

Tais respostas têm sido justificadas tanto pelo menor grau de maturação do trato digestório observado em aves submetidas ao jejum hídrico-alimentar, evidenciado especialmente no desenvolvimento da mucosa intestinal como pelos níveis de alguns hormônios (insulina) e atividades enzimáticas (DECUYPERE; BRUGGEMAN, 2007). De fato, o epitélio intestinal é particularmente afetado pela ausência de alimento, sendo a altura dos vilos do duodeno significativamente reduzida em aves expostas ao jejum de apenas 24 horas (YAMAUCHI; KAMISOYAMA; ISSHIKI, 1996).

Para atingir seu máximo potencial funcional o trato gastrointestinal de pintainhos neonatos precisa passar por um processo de maturação, caracterizado por alterações morfofisiológicas no intestino e órgãos anexos. As alterações morfológicas no intestino baseiam-se no aumento da área de superfície disponível para digestão e absorção dos nutrientes e envolve aumento no comprimento do intestino, e na altura e densidade dos vilos e microvilos, o que ocorre devido a maiores taxas de mitose nos enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas (BARANYIOVA, 1972; BARANYIOVA; HOLMAN, 1976). Por outro lado, as alterações fisiológicas relacionam-se com o aumento na produção e atividade das enzimas digestivas pancreáticas e de membrana (NITSAN et al., 1991; NITSAN; DUNINGTON; SIEGEL, 1991) bem como no número de transportadores de membrana (SHEHATA; LERNER; MILLER, 1984). Em frangos de corte, o aumento na altura dos vilos e profundidade das criptas do duodeno, começam ainda *in ovo*, ocorrendo entre o 17º dia de incubação e o 7º dia pós-eclosão (UNI; GANOT; SKLAN, 1998).

Baranyiova e Holman (1976) observaram que a altura e o diâmetro dos vilos, o diâmetro do intestino delgado, bem como o “*turnover*” celular do epitélio intestinal de aves expostas ao jejum são significativamente reduzidos. Os autores afirmaram ainda que o jejum pós-eclosão não causa apenas alterações na morfologia do intestino, mas também prejudica a sua capacidade absorptiva. Ainda, em caso de jejum prolongado, as células epiteliais passam a apresentar grandes vacúolos autofágicos lisossomais,



caracterizando morte celular, sugerindo que o jejum causa digestão intracelular (YAMAUCHI; KAMISOYAMA; ISSHIKI, 1996), levando a um menor desenvolvimento dos vilos (YAMAUCHI; KAMISOYAMA; ISSHIKI, 1996; SHAMOTO & YAMAUCHI, 2000) e à elevação na taxa de extrusão e conseqüente redução na altura dos vilos e perda de epitélio pelos mesmos (GOMIDE; STERZO; PIRES, 2003). Paralelamente à redução do número de enterócitos, observa-se aumento na densidade de células caliciformes produzindo e secretando mucina ácida e neutra para a superfície do jejuno e íleo (UNI; SMIRNOV; SKLAN, 2003), as quais protegem os microvilos contra atritos provocados pela passagem da digesta, ação das enzimas digestivas, suco gástrico e agentes patogênicos (FORSTNER; FORSTNER, 1994; FORSTNER; OLIVER; SYLVESTER, 1995), assim como a perda de água através da parede intestinal.

Certamente a capacidade da ave em se recuperar dos transtornos histológicos e bioquímicos provocados pelo jejum garante uma compensação ao seu desenvolvimento, no entanto, possivelmente estas aves poderão ter seu potencial produtivo afetado. De fato o epitélio intestinal recupera-se dos danos provocados pelo jejum após realimentação, sendo estimulado pela absorção de nutrientes no trato gastrintestinal (TARACHAI; YAMAUCHI, 2000).

Paralelamente as alterações morfofisiológicas ocorridas no intestino, durante as primeiras semanas após a eclosão, pode-se observar que a relação entre o desenvolvimento dos órgãos do sistema digestório e o peso corporal diminuiu de acordo com o aumento da idade, apresentando as maiores proporções durante os estádios iniciais de crescimento (CALIXTO, 1988). Logo após o nascimento e com o início da alimentação, a relação de crescimento entre os segmentos do trato gastrintestinal e o crescimento do corpo é alométrica (NITSAN; DUNINGTON; SIEGEL, 1991). Segundo os mesmos autores, o pâncreas e o intestino aumentavam de peso 4 vezes e o fígado 2 vezes mais que o peso do corpo, durante a 1ª semana de vida.

Logo após a eclosão, a maior parte dos nutrientes disponíveis à ave é direcionada para a maturação do trato gastrintestinal, principalmente do intestino delgado. Este desenvolvimento preferencial em relação a outros sistemas pode ser verificado tanto na presença como na ausência de alimento no lúmen intestinal, porém, quando os nutrientes necessários não são recebidos através da ração, os pintainhos

recém-eclodidos utilizam o saco vitelino como única fonte nutricional. No entanto, Mikec *et al.* (2006) propuseram que o período de jejum antes do alojamento também está relacionado com o tempo de absorção do saco vitelino. Neste sentido, Noy, Uni e Sklan (1996) sugeriram que a absorção do saco vitelino é mais rápida quanto mais cedo os pintainhos receberem água e ração, uma vez que o transporte da gema para o intestino pode ser aumentado pela maior atividade intestinal das aves alimentadas. Por outro lado, Murakami, Akiba e Horiguchi (1992) não observaram alteração na velocidade de absorção do saco vitelino em frangos submetidos a diferentes períodos de jejum logo após o nascimento.

Além dos efeitos adversos do jejum sobre o desenvolvimento dos pintainhos, recentemente, o gasto energético envolvido na geração da resposta imune frente a antígenos vacinais vem recebendo maior importância da comunidade científica. Para Cook (1999), o custo energético envolvido na resposta imune, a partir da estimulação dos órgãos do sistema imunológico com antígenos vacinais, pode afetar a produtividade das aves. Todavia, Klasing (2007) afirmou ser pouco provável que o sistema imunológico tenha um consumo significativo de recursos nutricionais, mesmo em situações de intensa atividade. No entanto, o mesmo pesquisador (KLASING, 2007) destacou que a ação indireta do microorganismo no organismo da ave pode se traduzir em perdas produtivas, esta envolve a febre, o aumento do “turnover” protéico em todo organismo, a queda de apetite e uma elevação drástica na taxa de gliconeogênese hepática.

Diante disso, é possível que o vírus vacinal da bronquite infecciosa das galinhas, ao se replicar no organismo do pintainho e ao estimular os órgãos do sistema imune, possa limitar a disponibilidade energética para o desenvolvimento do trato gastrointestinal e para o crescimento das aves.

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar os efeitos da vacina, contra a bronquite infecciosa das galinhas (BIG), e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão, durante 0, 12, 24, 48 ou 72 horas, sobre o desempenho zootécnico, desenvolvimento de órgãos gastrintestinais e anexos, e sobre a morfometria do intestino delgado, nos primeiros 21 dias de vida.

## Material e Métodos

### Período Pré-experimental

A incubação foi realizada de acordo com os procedimentos de rotina do Incubatório de Ajapi da Empresa Perdigão Agroindustrial S/A, onde foram utilizados ovos incubáveis ( $63,69 \pm 0,81\text{g}$ ) da linhagem Cobb 500 Slow<sup>®</sup> provenientes de um mesmo lote de avós com 37 semanas de vida. Os ovos foram estocados a 18°C durante 10 dias. Antes da incubação, os ovos foram pré-aquecidos durante 8 horas em uma sala com temperatura ambiente de 30°C e umidade relativa entre 60 e 65%. A incubação foi realizada em uma mesma incubadora<sup>1</sup> com temperatura de 37,5 °C e umidade relativa de 60 - 65 %. Com 240 horas de incubação foi realizada a ovoscopia para descartar os ovos não viáveis. Com 456 horas de incubação (19 dias) os ovos foram transferidos para os nascedouros<sup>2</sup>, que foram mantidos com temperatura interna e umidade relativa de 36,5 °C e 70 %, respectivamente. Durante a transferência dos ovos procedeu-se a vacinação dos pintainhos via “in ovo” contra a doença de Marek.

Visando uma maior uniformidade no tempo de incubação, e baseando-se na janela de eclosão obtida nesse incubatório, foram utilizadas no experimento somente as pintainhas nascidas entre 492 e 500 horas de incubação. Para isso, às 492 horas de incubação os nascedouros foram abertos e os pintainhos nascidos foram retirados das bandejas de nascimento e remanejados, essas aves não foram utilizadas para o experimento. Às 500 horas de incubação 2000 pintainhos nascidos no intervalo (492 a 500 horas) foram remanejados para bandejas vazias e foram imediatamente direcionadas para a sexagem pela cloaca, ao final da sexagem, que durou cerca de 3 horas, 750 pintainhas foram transportadas imediatamente até as dependências do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP/Jaboticabal, situada a uma distância de 180 km do incubatório, onde o experimento foi conduzido.

O tempo de transporte das aves do incubatório à Faculdade foi de 3 horas. Desta forma, as aves nascidas logo após as 492 horas foram submetidas a um período máximo de 14 horas de jejum até o início dos tratamentos (tempo zero) e a diferença

---

<sup>1</sup> Incubadora CASP Mg 62 “i”<sup>®</sup>

máxima em horas entre os nascimentos foi de 8 horas. Assim, o tempo zero correspondeu ao momento usual de saída das aves do nascedouro.

## Período experimental

### Delineamento

Imediatamente após a chegada ao Setor de Avicultura, as pintainhas foram pesadas e separadas em faixas de peso de modo que os pesos médios das parcelas foram similares. Distribuiu-se as aves em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2X5, sendo os fatores a vacinação (vacinado ou não vacinado) e o período de jejum hídrico-alimentar (0, 12, 24, 48 ou 72 horas) totalizando 10 tratamentos com quatro repetições de 18 matrizes cada. As parcelas foram distribuídas em boxes (no piso) em duas câmaras climatizadas, separando as parcelas vacinadas das não vacinadas. As aves foram criadas durante as primeiras 3 semanas de vida. A ração fornecida foi à base de milho e farelo de soja, formulada de acordo às exigências nutricionais da linhagem (NRC, 1994), encontra-se na Tabela 1.

---

<sup>2</sup>Nascedouro *CASP Ug 21 “e”*®

Tabela 1. Composição das dietas experimentais em Kg e período de utilização.

Ingrediente	Formulação
	Inicial (1-21 dias)
<b>Milho</b>	656,55
<b>Farelo de soja, 45</b>	297,15
<b>Óleo de soja</b>	8,75
<b>Fosfato bicálcico</b>	18,59
<b>Calcário calcítico</b>	11,03
<b>Sal comum</b>	4,05
<b>Cloreto de colina 60%</b>	0,7
<b>DL-metionina</b>	1,31
<b>L-lisina</b>	0,37
<b>Suplemento (1kg/ton) <sup>1</sup></b>	1
<b>Coccidiostático <sup>3</sup></b>	0,5
<b>Total</b>	<b>1000</b>

<sup>1</sup> Suplemento mineral e vitamínico – níveis de garantia por kg do produto (selênio – 273,6 mg; ac. nicotínico – 34650 mg; Cu – 10000 mg; pantetonato de cálcio – 9500 mg; biotina – 1600mg; manganês – 76260 mg; vitamina D3 – 3000000 UI; iodo – 1300mg; Zn – 91250 mg; antioxidante – 100 mg; vitamina K – 980 mg; vitamina E – 25000 mg; vitamina A – 7000000 UI; vitamina B1 – 1780 mg; vitamina B12 – 10000 mcg; vitamina B2 – 9600 mg; vitamina B6 – 3465mg. <sup>2</sup> Coxistac 12%<sup>®</sup>.

O fornecimento de ração e água iniciou-se após o período de jejum, dependendo do tratamento e o programa alimentar utilizado foi *ad libitum*. As câmaras foram mantidas na temperatura termoneutra de acordo com a idade das aves. O programa de luz adotado foi de 23 horas de luz na primeira semana, 20 horas na segunda e 16 horas na terceira. A intensidade de luz foi de 25 lux durante todo o programa de luz.

### Vacinação

A vacinação contra a bronquite infecciosa das galinhas foi realizada no momento do alojamento, via óculo-nasal (1 gota/via) contendo vírus vivos liofilizados, contendo um total de  $10^4$  DIE<sub>50</sub>/dose da amostra MASSACHUSETTS (H-120) do vírus da bronquite infecciosa das galinhas, da Biovet. As aves vacinadas foram mantidas em câmara distinta das aves não vacinadas. Com o intuito de evitar a propagação do vírus das aves vacinadas para as não vacinadas, o manejo de cada uma das câmaras foi procedido por pessoas diferentes.

### Variáveis avaliadas

Ao final do 1º, 3º, 7º, 14º e 21º dia de vida, uma ave por unidade experimental, representando o peso médio da parcela foi selecionada para pesagem do proventrículo, moela, fígado, saco vitelínico e intestino, além do comprimento do intestino. Paralelamente foram coletados segmentos do intestino delgado correspondentes ao duodeno, jejuno e íleo para posterior análise de altura das vilosidades, profundidade de cripta e contagem de células caliciformes. Ainda, foi avaliado o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar das matrizes nas idades 7, 14 e 21 dias.

### Crescimento Alométrico das Vísceras

O crescimento alométrico das vísceras avaliadas, bem como a taxa de absorção do vitelo presente no saco vitelínico foram obtidos a partir da seguinte equação:  $(Vd/Vn)/(Pd/Pn)$ , onde Vd = peso da víscera no dia da coleta, Vn = Peso da víscera ao nascimento, Pd = Peso da ave no dia da coleta e Pn = Peso da ave ao nascimento (NIR; NITSAN; MAHAGNA, 1993).

### Análises estrutural e morfológica do intestino

A análise estrutural constituiu-se nas mensurações de tamanho do intestino e pesos do intestino e pâncreas, fígado, moela, pró-ventrículo e saco vitelínico.

A análise morfométrica constituiu-se na mensuração da altura de vilosidades, profundidade de criptas e número de células caliciformes na mucosa intestinal. Para tanto, segmentos de aproximadamente 1,5 cm do duodeno, jejuno e íleo foram coletados e preparados para análise histológica. Foi considerado como duodeno a porção que vai da região pilórica até o final da alça duodenal, como jejuno a região do final da alça duodenal até o divertículo de Meckel e como íleo a área entre o divertículo e a entrada dos cecos. Os segmentos intestinais intermediários de cada uma destas porções foram então abertos em toda sua extensão pela borda mesentérica, estendidos em uma base de papel rígido, identificados, lavados em água corrente e fixados em solução de Bouin por 24 horas. Passado este período os mesmos foram lavados para retirada do fixador, desidratados em solução de concentração crescente de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e absoluto), diafanizados em xilol, incluídos em parafina,

microtomizados a 5 $\mu$ m, dispostos em lâminas 26 X 76 mm, e corados. Em cada lâmina foram dispostos 5 cortes de regiões diferentes do mesmo segmento como forma de garantir um universo grande de vilosidades a serem analisadas e proporcionar a cobertura de grande parte da extensão do segmento, maximizando a confiabilidade nos resultados. Para a obtenção da coloração PAS os cortes foram desparafinizados e reidratados. Em seguida, foram incubados em ácido periódico 0,5% por 15 minutos, lavados e incubados com reagente de Schiff, por 30 minutos. Os cortes foram fotografados por um sistema de câmera digital acoplada a microscópio binocular e, posteriormente analisados pelo software analisador de imagens Image-J. Para cada porção intestinal foi obtida a média aritmética das medidas morfométricas de 30 vilosidades e criptas, por cada amostra. As células caliciformes produtoras de mucina neutra foram quantificadas ao longo de 35000  $\mu$ m<sup>2</sup> de epitélio. Ao todo foram realizadas, aleatoriamente, cerca de 5 contagens por segmento/ave/parcela.

#### Desempenho

Durante todo período experimental, ao final de cada semana, todas as aves e comedouros foram pesados, determinando-se assim os índices zootécnicos médios (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) de cada parcela experimental. Diariamente a mortalidade de cada parcela experimental foi pesada, sendo seu peso proporcionalmente descontado dos cálculos de desempenho.

#### Análise estatística

Os dados foram avaliados quanto ao atendimento das pressuposições de homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros estudentizados. Em seguida foram submetidos à análise de variância pelo procedimento *GLM (General Linear Models)* do programa SAS<sup>®</sup> e em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados

### Desempenho Zootécnico

Houve interação significativa ( $p>0,05$ ) entre vacina (V) e jejum pós-eclosão (J) apenas para a conversão alimentar (CA) aos 21 dias de vida, cujo desdobramento encontra-se na Tabela 3. Os demais resultados dos parâmetros zootécnicos nos referidos períodos foram apresentados de forma a demonstrar o efeito principal de cada fator sobre as variáveis consideradas (Tabela 2).



Tabela 2. Consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA), aos 7, 14 e 21 dias, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)		
		7	14	21
<b>Consumo de ração (CR) (g)</b>				
Vacina	Não Vacinado	139	423	967 a
	Vacinado	138	411	852 b
Jejum (horas)	0	171 a	487 a	1023 a
	12	164 a	466 a	1016 a
	24	149 b	433 a	971 a
	48	113 c	368 b	807 b
	72	92 d	323 c	761 b
Probabilidade	Vacina (V)	0,6746	0,2546	0,0002
	Jejum (J)	<,0001	<,0001	<,0001
	VXJ	0,1288	0,5127	0,1862
CV (%)		6,06	7,42	9,32
<b>Ganho de peso (GP) (g)</b>				
Vacina	Não Vacinado	105 a	306	666
	Vacinado	101 b	303	654
Jejum (horas)	0	123 a	342 a	713 a
	12	124 a	341 a	710 a
	24	116 b	324 a	686 a
	48	91 c	280 b	626 b
	72	64 d	232 c	564 c
Probabilidade	Vacina (V)	0,0098	0,5668	0,0909
	Jejum (J)	<,0001	<,0001	<,0001
	VXJ	0,5133	0,8554	0,4137
CV (%)		4,53	4,27	3,31
<b>Conversão Alimentar (CA)</b>				
Vacina	Não Vacinado	1,29	1,37	1,43
	Vacinado	1,32	1,36	1,27
Jejum (horas)	0	1,38 b	1,41	1,41
	12	1,33 ab	1,36	1,44
	24	1,28 ab	1,38	1,41
	48	1,23 a	1,30	1,29
	72	1,32 ab	1,39	1,28
Probabilidade	Vacina (V)	0,1751	0,8317	<,0001
	Jejum (J)	0,0067	0,1747	<,0001
	VXJ	0,7095	0,6859	0,0107
CV (%)		5,83	6,38	4,58

a-d: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

O consumo de ração (CR) foi influenciado pela vacina ( $p < 0,05$ ) aos 21 dias de vida, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ), nos dias 7, 14 e 21. Aos 21 dias de vida, o consumo de ração (CR) foi menor ( $p < 0,05$ ) nas aves vacinadas contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG). Aos 7 dias de vida, o CR de aves mantidas em jejum pós-eclosão por 12 horas não diferiu do CR das alimentadas ao alojamento, no entanto, dentre as aves submetidas a 24, 48 e 72 horas de jejum, quanto maior o período de privação de alimento maior o prejuízo no CR. Aos 14 e aos 21 dias de vida, o CR não diferiu entre aves mantidas em jejum pós-eclosão por até 24 horas, no entanto, aos 14 dias o jejum de 72 horas promoveu maior redução no CR que o jejum de 48 horas, o que não foi verificado aos 21 dias.

A vacina contra a BIG exerceu influência sobre o ganho de peso (GP) aos 7 dias, enquanto o jejum influenciou ( $p < 0,05$ ) o GP durante todo período experimental (Tabela 02). Aos 7 dias de vida, o GP não diferiu entre aves mantidas em jejum por até 12 horas após o alojamento, no entanto, nas aves sujeitas a 24, 48 e 72 horas de jejum, quanto maior o período de privação de alimento, maior o prejuízo no GP. Nos dias 14 e 21, o GP não diferiu entre aves mantidas em jejum pós-eclosão por até 24 horas e foi pior nas aves mantidas em jejum por 48 e 72 horas, sendo que nestes dois grupos o prolongar do jejum piorou o GP.

A análise comparativa de GP entre as matrizes submetidas a 24, 48 e 72 horas de jejum pós-eclosão e aquelas alimentadas ao alojamento revela a existência de GP compensatório. O prejuízo no GP das aves submetidas a 24 horas de jejum pós-eclosão, aos 7, 14 e 21 dias, foi respectivamente de 5,84%, 5,39% e 3,73%. O prejuízo foi mais acentuado nas matrizes sujeitas a 48 horas de jejum, nas quais o prejuízo no GP foi de 25,56% aos 7 dias, 18,22% aos 14 dias e 12,22% aos 21 dias. Já, nas aves mantidas em jejum por 72 horas, o prejuízo no GP foi de 47,95%, 32,07% e 20,89%, respectivamente, aos 7, 14 e 21 dias.

A conversão alimentar (CA) sofreu influência da vacina ( $p < 0,05$ ) no 21º dia de vida, e do jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 7 e 21. Houve interação significativa entre jejum e

vacina ( $p < 0,05$ ) aos 21 dias (Tabela 3). Aos 7 dias de vida, a CA das aves mantidas em jejum por 48 horas foi melhor que a CA das aves alimentadas ao alojamento.

Tabela 3. Desdobramento da interação para conversão alimentar (CA), aos 21 dias, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

CA - Dia 21					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	1,49 Bb	1,44 ab	1,45 ab	1,39 Bab	1,36 Ba
<b>Vacinado</b>	1,3 Aabc	1,44 c	1,36 bc	1,18 Aa	1,2 Aab

a-c: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 21 dias de vida, dentre as aves sujeitas a 0, 48 e 72 horas de jejum pós-eclosão, as vacinadas apresentaram melhor CA. Dentre as aves que não foram vacinadas, aquelas alimentadas ao alojamento apresentaram pior índice de CA que as mantidas em jejum por 72 horas. Nas aves vacinadas contra a BIG, as sujeitas a 48 e 72 horas de jejum apresentaram melhor CA que as mantidas em jejum por 12 horas.

#### Desenvolvimento de vísceras gastrintestinais e absorção do saco vitelínico

Conforme observado na Tabela 4, a vacina exerceu influência ( $p < 0,05$ ) sobre duas variáveis desta seção, sendo a primeira a taxa residual do saco vitelínico e a segunda o crescimento alométrico do intestino, enquanto o jejum exerceu influência ( $p < 0,05$ ) sobre todas as variáveis avaliadas. Houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre vacina (V) e jejum (J) para o comprimento do intestino aos 3 dias (Tabela 5). Os gráficos a seguir apresentam os dados de forma a demonstrar os efeitos principais de vacina e jejum sobre as variáveis avaliadas (Gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).

Tabela 4. Valores de p e de coeficiente de variação para as variáveis de desenvolvimento de vísceras de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)				
		1	3	7	14	21
<b>Moela</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,1201	0,0518	0,6036	0,7011	0,1847
	Jejum (J)	0,0096 *	<,0001 *	<,0001 *	0,0622	0,1031
	VXJ	0,64	0,5104	0,5204	0,05	0,6509
CV (%)		6,22	8,38	8,66	6,78	15,48
<b>Proventrículo</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,1749	0,3187	0,2154	0,9987	0,9766
	Jejum (J)	0,0169 *	0,0058 *	0,0016 *	<,0001 *	0,2084
	VXJ	0,5865	0,4692	0,0656	0,5102	0,7957
CV (%)		8,92	12,23	13,45	9,14	16,04
<b>Fígado</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,4228	0,2589	0,0591	0,3488	0,0553
	Jejum (J)	0,0013 *	<,0001 *	0,082	0,1706	0,0244 *
	VXJ	0,4011	0,9502	0,2772	0,0862	0,1796
CV (%)		8,23	10,95	10,83	14,16	12,63
<b>Saco vitelínico</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,013 *	0,2926	...	...	...
	Jejum (J)	0,1564	0,0204 *	...	...	...
	VXJ	0,7485	0,7626	...	...	...
CV (%)		23,94	42,89	...	...	...
<b>Intestino</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,0893	0,389	0,0412 *	0,0968	0,4664
	Jejum (J)	<,0001 *	0,0100 *	0,1166	0,5899	0,0145 *
	VXJ	0,7797	0,4163	0,3456	0,8127	0,2735
CV (%)		11,29	14,08	12,96	12,53	12,21
<b>Comprimento Intestino (cm)</b>						
Probabilidade	Vacina (V)	0,5109	0,483	0,1404	0,53	0,9429
	Jejum (J)	<,0001 *	<,0001 *	0,5691	0,0496	0,3781
	VXJ	0,1244	0,0199 *	0,6543	0,1704	0,5119
CV (%)		8,08	6,04	8,21	6,49	8,77

\* Estatisticamente significativo ao nível de 5% de probabilidade.

O crescimento alométrico da moela foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ). O Gráfico 1 mostra o efeito do jejum sobre esta variável, dos 3 aos 21 dias de vida.

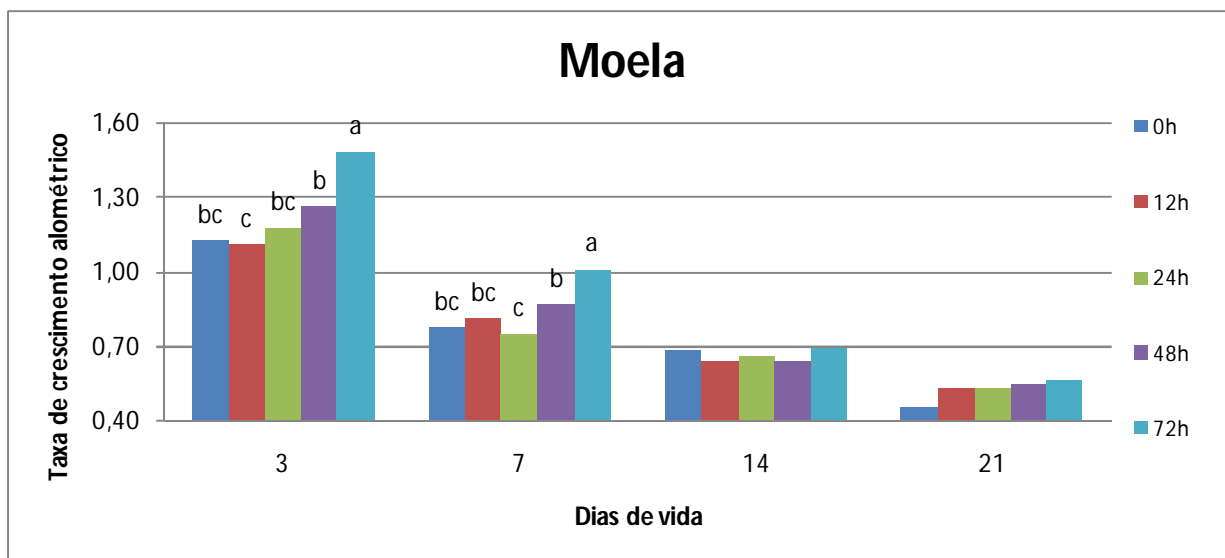


Gráfico 01. Crescimento alométrico da moela de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 3 dias de vida, o crescimento alométrico da moela de matrizes em jejum superou a taxa de crescimento da moela das aves alimentadas em momentos anteriores (Gráfico 1). Considerando-se que entre o 1º e o 3º dia, as aves mantidas em jejum perderam 4,56% de seu peso vivo (resultados não mostrados) poderia-se supor que o aumento no crescimento alométrico desta víscera fosse reflexo da queda em seu peso vivo. No entanto, neste período o peso absoluto da moela das aves mantidas em jejum sofreu um aumento de 19,52% (resultados não mostrados), enquanto o peso da moela das aves alimentadas ao alojamento aumentou 41,42% (resultados não mostrados). Apesar do prolongar do jejum reduzir o crescimento da moela em termos absolutos, chama a atenção o fato da víscera se desenvolver mesmo em condições de falta de água e ração.

Aos 7 dias de vida, a moela das aves mantidas em jejum por 72 horas se desenvolveu em uma taxa igual a do corpo, enquanto o crescimento alométrico da moela nas matrizes sujeitas a períodos menores de jejum ocorreu em um ritmo inferior. O jejum não exerceu influência sobre o crescimento da moela nas coletas seguintes.

O crescimento alométrico do proventrículo foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 14. O Gráfico 2 mostra o efeito do jejum sobre esta variável, dos 3 aos 21 dias de vida.

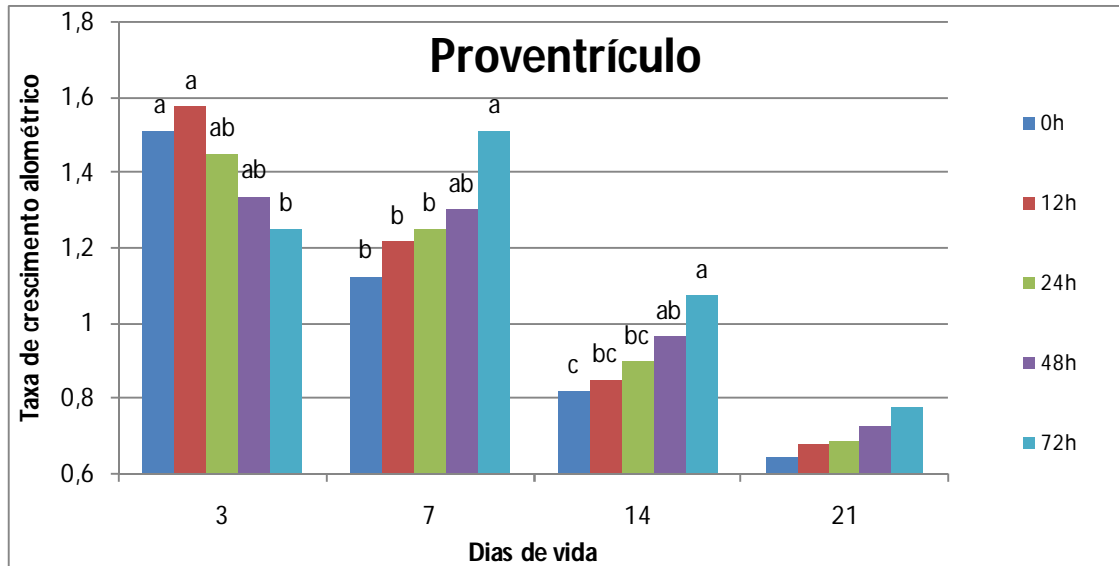


Gráfico 02. Crescimento alométrico do proventrículo de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Ao final do 3º dia de experimento, apesar de ter ocorrido um discreto aumento (3,03%) no peso absoluto do proventrículo das aves mantidas em jejum, o crescimento alométrico do proventrículo destas aves foi inferior ao daquelas alimentadas com atraso de até 12 horas (Gráfico 2). Após ter acesso a alimentação exógena, as matrizes mantidas em jejum pós-eclosão por 72 horas, apresentaram acentuado crescimento alométrico do proventrículo, sendo que nos dias 7 e 14 o crescimento da víscera superou o crescimento nas alimentadas com atraso máximo de 24 horas.

O crescimento alométrico do fígado foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ). O Gráfico 3 mostra o efeito do jejum sobre esta variável, dos 3 aos 21 dias de vida.

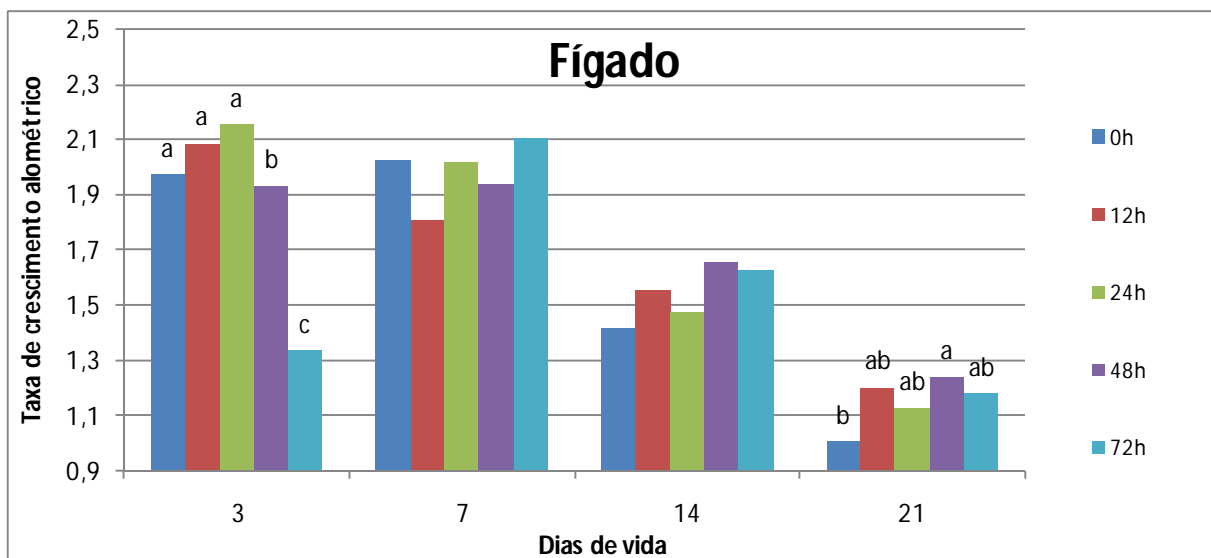


Gráfico 03. Crescimento alométrico do fígado de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 3 dias de vida, o crescimento do fígado das aves alimentadas com atraso de até 24 horas superou o crescimento do fígado de matrizes mantidas em jejum por 48 e 72 horas, sendo que nas aves que permaneceram em jejum o fígado cresceu menos que nas sujeitas a 48 horas de jejum. O fígado ds matrizes mantidas em jejum apresentou crescimento absoluto de 16 % (dados não mostrados).

O crescimento do fígado foi intensificado a partir do início da alimentação exógena, sendo que aos 7 e aos 14 dias, o jejum não influenciou o crescimento do fígado. No entanto, aos 21 dias, aves alimentadas ao alojamento tiveram taxa de crescimento do fígado inferior a do corpo, de forma que estas aves apresentaram crescimento do fígado inferior ao observado nas que permaneceram em jejum por 48 horas.

O crescimento alométrico do intestino foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3 e 21, e pela vacina aos 7 dias. Os efeitos principais da vacina e do jejum sobre o crescimento alométrico do intestino encontram-se nos Gráficos 4 e 5, respectivamente.

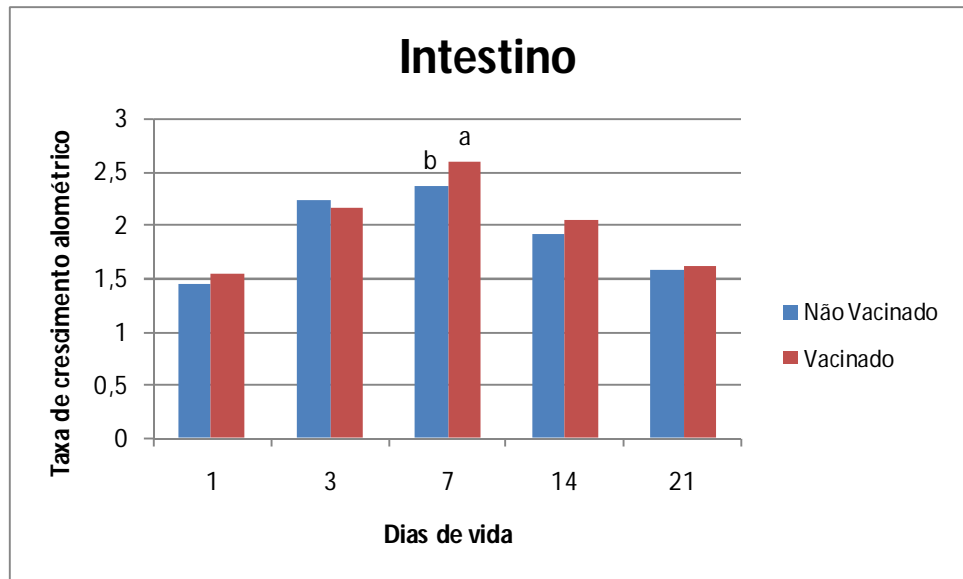


Gráfico 04. Crescimento alométrico do intestino de matrizes pesadas vacinadas ou não contra a BIG. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística.

Aos 7 dias de vida, o intestino das matrizes vacinadas apresentou um crescimento superior ao das não vacinadas.

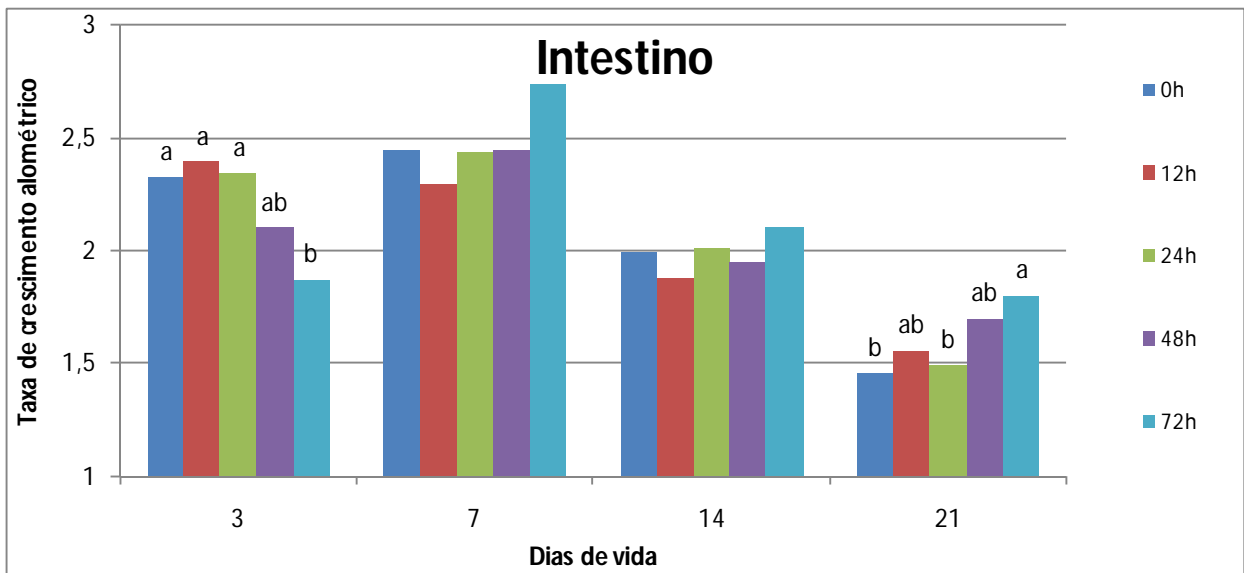


Gráfico 05 . Crescimento alométrico do intestino de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 3 dias de vida, as matrizes mantidas em jejum apresentaram taxa de crescimento do intestino inferior a daquelas mantidas em jejum por até 24 horas



(Gráfico 5), no entanto as aves que permaneceram em jejum tiveram um crescimento absoluto do intestino de 38,80 % (dados não mostrados).

Após a alimentação exógena o crescimento alométrico do intestino elevou-se consideravelmente, sendo que nos dias 7 e 14, o crescimento do intestino não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes períodos de jejum. Aos 21 dias de vida, as aves sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram crescimento do intestino maior que as alimentadas ao alojamento e que as mantidas em jejum por 24 horas.

O comprimento do intestino foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias de vida, quando também ocorreu interação significativa entre vacina e jejum ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5).

Tabela 5. Desdobramento da interação para o comprimento do intestino, aos 3 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

<b>Comprimento Intestinal (cm) - Dia 3</b>					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	62,50 a	61,37 ab	55,00 Bb	45,66 c	41,33 c
<b>Vacinado</b>	58,33 a	58,00 a	57,87 Aa	52,87 a	42,75 b

a-c: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 3 dias de vida, dentre as matrizes que jejuaram por 24 horas, o comprimento intestinal das aves vacinadas contra a BIG superou o das que não receberam a vacina. Nas matrizes vacinadas, aquelas sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram redução no comprimento intestinal. Já nas não vacinadas, o prolongar do jejum promoveu redução do comprimento intestinal.

A taxa residual do saco vitelínico foi influenciada pela vacina ( $p < 0,01$ ) nas aves com 1 dia e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias de vida. Os efeitos principais da vacina e do jejum sobre a taxa residual do saco vitelínico encontram-se nos Gráficos 6 e 7, respectivamente.

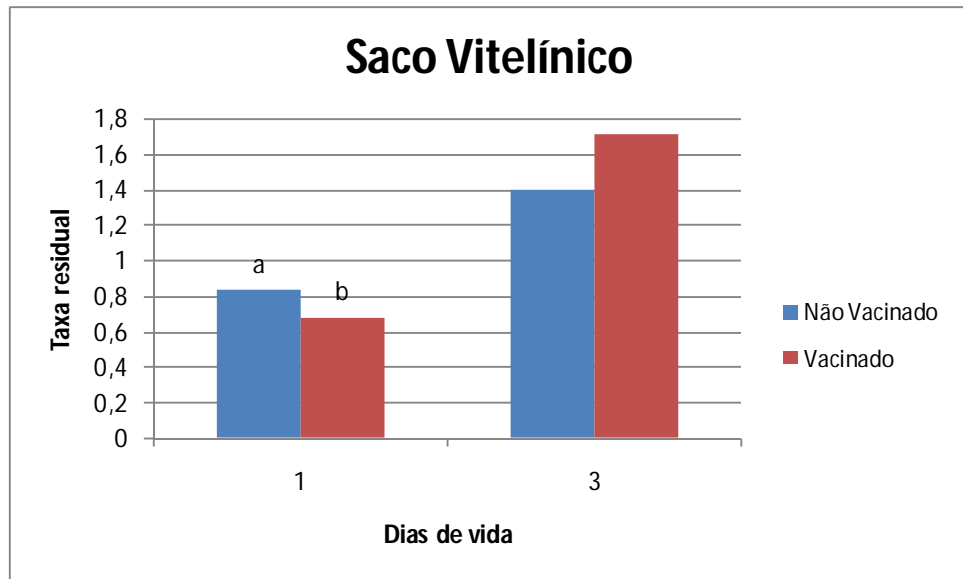


Gráfico 06. Taxa residual do saco vitelínico de matrizes pesadas vacinadas ou não contra a BIG. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística.

Decorridas 24 horas do alojamento das aves, nota-se que as aves que receberam a vacinação contra a BIG, apresentaram menor taxa residual de saco vitelínico. No entanto, nenhuma diferença na reabsorção da gema pode ser verificada ao final do 3º dia de experimento.

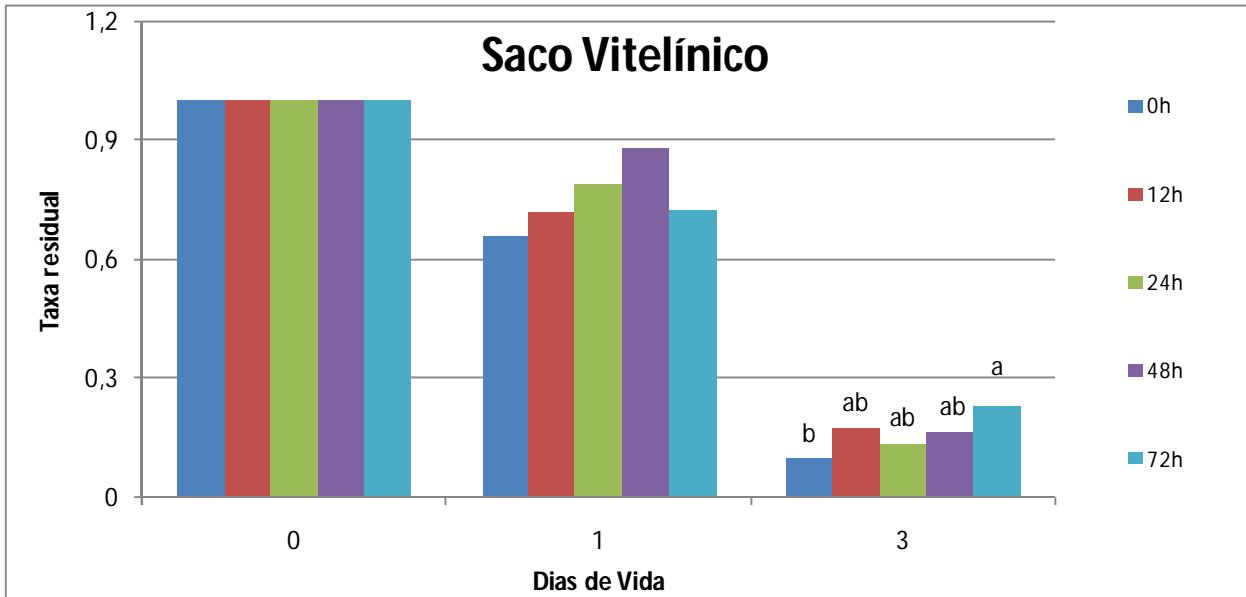


Gráfico 07. Taxa residual do saco vitelínico de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Para cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 3 dias de vida, as aves alimentadas ao alojamento apresentaram menor resíduo de vitelo que as mantidas em jejum ( $p < 0,05$ ). A partir do 5º dia o valor residual do saco vitelínico de muitas parcelas foi desprezível, o que impossibilitou a análise estatística.

Parâmetros morfométricos do intestino delgado.

Os efeitos principais da vacina contra a BIG e do jejum pós-eclosão sobre as variáveis de morfometria intestinal encontram-se nas Tabelas 6, 7 e 8. A Tabela 6 mostra os resultados das mensurações da altura das vilosidades nos diferentes segmentos intestinais estudados (Duodeno, Jejun e Íleo).

Tabela 06. Altura de vilos (AV) do duodeno, do jejuno e do íleo, aos 3, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)			
		3	7	14	21
		<b>Duodeno (AVD) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
Vacina	Não Vacinado	651	923	1188 b	1440
	Vacinado	598	944	1284 a	1336
Jejum (horas)	0	662 ab	981 a	1407 a	1402
	12	737 a	951 ab	1222 ab	1472
	24	673 a	904 ab	1153 b	1336
	48	546 bc	961 ab	1196 b	1330
	72	501 c	838 b	1202 b	1386
Probabilidade	Vacina (V)	0,0504	0,6602	0,0336	0,205
	Jejum (J)	<,0001	0,0368	0,0074	0,2349
	VXJ	0,7046	0,3283	0,953	0,9042
CV (%)		13	8,28	10,95	12,43
		<b>Jejuno (AVJ) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
Vacina	Não Vacinado	337	510	807	847
	Vacinado	340	540	864	881
Jejum (horas)	0	353 ab	589 a	847	897
	12	385 a	600 a	857	804
	24	357 ab	510 b	816	858
	48	314 bc	470 b	890	866
	72	283 c	455 b	767	902
Probabilidade	Vacina (V)	0,8107	0,0874	0,0792	0,3793
	Jejum (J)	0,0002	< 0,0001	0,1658	0,3949
	VXJ	0,8923	0,8059	0,6868	0,9042
CV (%)		11,79	10,07	11,85	12,42
		<b>Íleo (AVI) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>			
Vacina	Não Vacinado	305	381	535 a	552
	Vacinado	295	364	460 b	552
Jejum (horas)	0	324 a	398 a	539	555 ab
	12	329 a	403 a	524	536 ab
	24	305 a	337 b	462	631 a
	48	293 ab	362 ab	497	521 b
	72	246 b	361 ab	469	514 b
Probabilidade	Vacina (V)	0,4009	0,1316	0,0075	0,9881
	Jejum (J)	0,0007	0,0039	0,2972	0,0233
	VXJ	0,198	0,0611	0,5745	0,3328
CV (%)		12,31	9,56	16,7	13,31

a-c: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

A altura dos vilos do duodeno (AVD) foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ) aos 14 dias, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 14. A vacina aumentou a AVD aos 14 dias de vida.

Aos 3 dias de vida, aves mantidas em jejum apresentaram AVD reduzida em relação às aves alimentadas com atraso de até 24 horas. No mesmo dia, a AVD das aves mantidas por 48 horas em jejum após o alojamento foi inferior a AVD das sujeitas a 12 e 24 horas de jejum. Aos 7 dias de vida, as aves submetidas a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram menor AVD que as alimentadas ao alojamento, enquanto no 14º dia, a AVD destas foi maior que de matrizes sujeitas a 24, 48 e 72 horas de jejum.

A altura de vilos do jejuno (AVJ) foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pelo jejum nos dias 3 e 7, sendo que aos 3 dias, as aves sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram menor valor de AVJ que as aves alimentadas com atraso de até 24 horas, e aves mantidas em jejum por 48 horas apresentaram menor AVJ que as alimentadas com 12 horas de atraso. Aos 7 dias, a AVJ das aves sujeitas a 24, 48 e 72 horas de jejum pós-eclosão foi menor que a AVJ das aves alimentadas até 24 horas após o alojamento.

A altura de vilos do íleo (AVI) foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pela vacina aos 14 dias, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 21. A vacina reduziu a AVI aos 14 dias de vida. Aos 3 dias de vida, aves mantidas em jejum apresentaram menor AVI que as aves sujeitas a 24 horas de jejum pós-eclosão. Aos 7 dias de vida, matrizes alimentadas com atraso de até 12 horas após o alojamento apresentaram AVI maior que as mantidas em jejum por 24 horas, no entanto matrizes sujeitas a 48 e a 72 horas de jejum não diferiram das demais. Aos 21 dias, as aves que permaneceram em jejum pós-eclosão por 48 e 72 horas tiveram menor AVI que as mantidas em jejum por 24 horas.

A Tabela 7 mostra os resultados das mensurações da profundidade de cripta nos diferentes segmentos intestinais estudados (Duodeno, Jejuno e Íleo).

Tabela 07. Profundidade de cripta (PC) do duodeno, do jejuno e do íleo, aos 3, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)			
		3	7	14	21
<b>Duodeno (PCD) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>					
Vacina	Não Vacinado	105 b	196 a	180 b	220
	Vacinado	116 a	172 b	209 a	230
Jejum (horas)	0	126 a	184	195	225
	12	128 a	200	186	224
	24	111 ab	173	184	223
	48	98 b	181	208	232
	72	88 b	186	200	222
Probabilidade	Vacina (V)	0,0411	0,0022	0,0001	0,069
	Jejum (J)	<,0001	0,2282	0,1286	0,6379
	VXJ	0,9141	0,0615	0,2921	0,0635
CV (%)		14,96	12,11	10,65	5,89
<b>Jejuno (PCJ) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>					
Vacina	Não Vacinado	94	145	200	179
	Vacinado	96	134	202	183
Jejum (horas)	0	102 a	138	195	180
	12	103 a	146	188	173
	24	106 a	137	187	182
	48	85 b	133	215	192
	72	77 b	141	221	178
Probabilidade	Vacina (V)	0,5819	0,1024	0,7964	0,2984
	Jejum (J)	<,0001	0,7779	0,1603	0,2312
	VXJ	0,2956	0,1956	0,0544	0,1432
CV (%)		11,95	15,29	16,88	9,15
<b>Íleo (PCI) (<math>\mu\text{m}</math>)</b>					
Vacina	Não Vacinado	93	137 a	195 a	211
	Vacinado	94	121 b	149 b	196
Jejum (horas)	0	93 ab	136	173	205
	12	107 a	135	168	199
	24	96 ab	125	158	212
	48	90 ab	125	196	194
	72	80 b	127	164	205
Probabilidade	Vacina (V)	0,894	0,0004	<,0001	0,1807
	Jejum (J)	0,0127	0,2472	0,0938	0,8656
	VXJ	0,4504	0,0766	0,2581	0,8305
CV (%)		14,89	9,94	2,7	17,28

a-b: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

A profundidade de cripta do duodeno (PCD) sofreu efeito ( $p < 0,05$ ) da vacina contra a BIG nos dias 3, 7 e 14, e do jejum ( $p < 0,05$ ) no dia 3. A PCD de aves vacinadas superou a PCD das não vacinadas nos dias 3 e 14, no entanto, aos 7 dias, o efeito oposto foi observado. Aos 3 dias de vida, a PCD de aves submetidas aos dois maiores períodos de jejum foi inferior a PCD de aves alimentadas com atraso menor ou igual a 12 horas.

A profundidade de cripta do jejuno (PCJ) não sofreu efeito da vacina em nenhuma das idades avaliadas ( $p > 0,05$ ). O jejum exerceu influência ( $p < 0,05$ ) apenas aos 3 dias de vida. A PCJ de aves mantidas em jejum pós- alojamento por 48 horas ou mais foi inferior a PCJ de aves mantidas em jejum por até 24 horas.

A profundidade de cripta do íleo (PCI) foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pela vacina aos 7 e aos 14 dias de vida, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ), aos 3 dias. Aves vacinadas apresentaram redução na PCI, tanto aos 7, como aos 14 dias. Aos 3 dias de vida, as aves que receberam o maior período de jejum pós-eclosão apresentaram menor valor de PCI comparativamente às aves mantidas em jejum por 12 horas.

Contagem de células caliciformes.

Na Tabela 8 encontram-se os resultados das contagens das células caliciformes produtoras de mucina neutra (PAS+) nos diferentes segmentos intestinais estudados (Duodeno, Jejuno e Íleo).

Tabela 08. Número de células calciformes (PAS+) quantificadas ao longo de 3500  $\mu\text{m}^2$  de epitélio intestinal, aos 3, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)			
		3	7	14	21
<b>Duodeno (CCCD)</b>					
Vacina	Não Vacinado	46	59	62 a	69
	Vacinado	44	58	57 b	68
Jejum (horas)	0	40 c	53 c	58 bc	72
	12	41 c	55 bc	55 c	69
	24	43 bc	60 ab	59 abc	66
	48	47 b	62 a	62 ab	68
	72	54 a	61 ab	64 a	69
Probabilidade	Vacina (V)	0,2143	0,5932	0,0005	0,7774
	Jejum (J)	<,0001	0,0019	0,0003	0,2823
	VXJ	0,4382	0,1937	0,2338	0,2639
CV (%)		8,69	8,23	6,19	7,44
<b>Jejuno (CCCJ)</b>					
Vacina	Não Vacinado	55 b	69	70 a	70
	Vacinado	61 a	69	67 b	69
Jejum (horas)	0	53 bc	62 b	65 b	68
	12	49 c	65 ab	66 b	68
	24	60 ab	70 ab	68 ab	69
	48	62 a	72 a	70 ab	71
	72	68 a	73 a	74 a	70
Probabilidade	Vacina (V)	0,0011	0,9746	0,0169	0,3591
	Jejum (J)	<,0001	0,0027	0,0084	0,6043
	VXJ	0,2108	0,9992	0,1618	0,1154
CV (%)		9,17	8,27	7,02	6,01
<b>Íleo (CCCI)</b>					
Vacina	Não Vacinado	60	83	85	86
	Vacinado	63	84	85	83
Jejum (horas)	0	58	73 c	82	86
	12	62	81 b	84	85
	24	61	90 a	86	81
	48	62	83 ab	87	85
	72	64	90 a	85	87
Probabilidade	Vacina (V)	0,1227	0,8172	0,8577	0,2058
	Jejum (J)	0,2229	<,0001	0,4201	0,6139
	VXJ	0,2518	0,1579	0,2047	0,35
CV (%)		8,48	5,54	6,89	8,47

a-c: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).



A contagem de células caliciformes do duodeno (CCCD) sofreu influência ( $p < 0,05$ ) da vacina aos 14 dias, e do jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 14. Aves vacinadas apresentaram menor valor de CCCD aos 14 dias. De forma geral, maiores períodos de jejum promoveram aumento da CCCD nas idades descritas acima. Aos 3 dias de vida, a CCCD das aves mantidas em jejum superou a contagem das demais, enquanto a CCCD das mantidas em jejum por 48 horas foi superior a contagem nas aves alimentadas com até 12 horas de atraso. Aos 7 dias de vida, a CCCD das aves mantidas em jejum por 24, 48 e 72 horas superou a contagem das alimentadas ao alojamento, enquanto a CCCD das aves que jejuaram por 48 horas superou a contagem das alimentadas com atraso de 12 horas. Aos 14 dias de vida, a CCCD das aves sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão foi superior a das alimentadas com atraso de até 12 horas, enquanto as matrizes que permaneceram em jejum por 48 horas apresentaram maior CCCD que as alimentadas com 12 horas de atraso.

A contagem de células caliciformes do jejuno (CCCJ) foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pela vacina nos dias 3 e 14 dias. No terceiro dia, aves vacinadas apresentaram maior CCCJ, já aos 14 dias, as aves que não foram vacinadas apresentaram a maior CCCJ. A CCCJ sofreu influência do jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 14, de forma geral o aumento do período de jejum foi acompanhado do aumento da CCCJ. Aos 3 dias, aves submetidas a 48 e a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram maior valor de CCCJ que as alimentadas com atraso de até 12 horas, enquanto as aves que jejuaram por 24 horas apresentaram CCCJ superior às sujeitas a 12 horas de jejum. A Figura 1 mostra o aspecto das células caliciformes PAS + presente no jejuno de matrizes alimentadas ao alojamento e das que permaneceram em jejum até o 3º dia de vida, nota-se que houve aumento no volume das células caliciformes em decorrência do jejum. Aos 7 dias de vida, aves sujeitas a 48 e a 72 horas de jejum apresentaram maior CCCJ que as alimentadas ao alojamento, já com 14 dias de vida, aves mantidas em jejum pós-eclosão de 72 horas tiveram maior CCCJ que as alimentadas com atraso de até 12 horas.

A contagem de células caliciformes do íleo (CCCI) sofreu influência do jejum ( $p < 0,05$ ) aos 7 dias de vida, quando aves sujeitas a 24, 48 e 72 horas de jejum

apresentaram maior CCCI que as alimentadas ao alojamento, as quais apresentaram menor CCCI que as sujeitas a 12 horas de jejum.

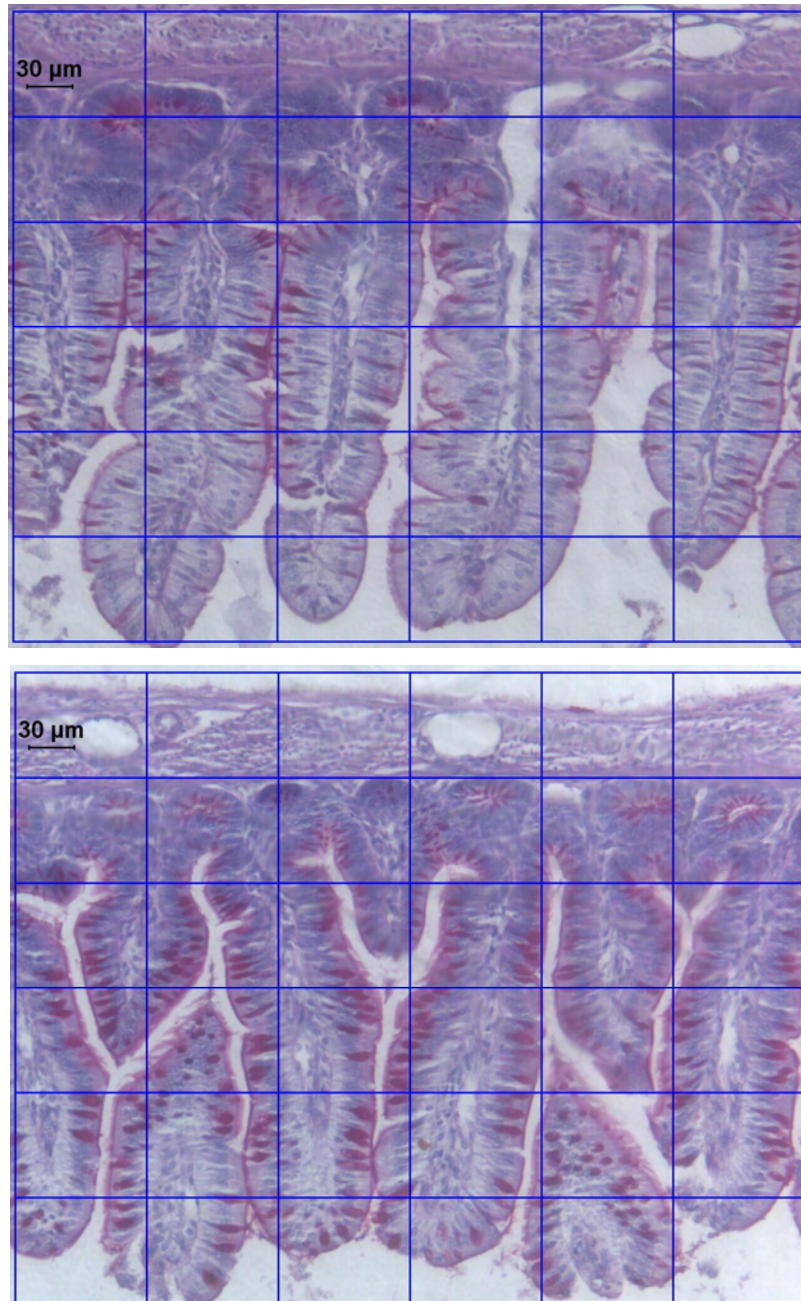


Figura 1. Células caliciformes PAS+ situadas no jejuno de matrizes pesadas, alimentadas com atraso de 72 horas (acima), ou alimentadas ao alojamento (abaixo). Amostras coletadas aos 3 dias de vida das aves.

## Discussão

### Desempenho Zootécnico

O efeito da vacina contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), sobre os índices zootécnicos avaliados nesta pesquisa, mostra que o vírus vacinal, embora de forma pouco expressiva, prejudica o GP aos 7 dias e melhora discretamente a CA e o CR aos 21 dias. Neste sentido, a redução no GP aos 7 dias das aves vacinadas, provavelmente pode ser explicada por dois efeitos, um direto e outro indireto. O primeiro baseia-se na energia despendida pela ave na geração de resposta imune diante da infecção pelo vírus vacinal. De fato, o custo energético da resposta imune frente à vacinação pode afetar a produtividade das aves (COOK, 1999), no entanto de acordo com Klasing (1998) parece pouco provável que o sistema imunológico tenha um consumo significativo de recursos nutricionais, mesmo em situações de intensa atividade.

O efeito indireto ocorre na fase aguda da infecção (KLASING, 2007) e envolve a febre, o aumento do “turnover” protéico em todo organismo, a queda de apetite e uma elevação drástica na taxa de gliconeogênese hepática (KLASING, 1998).

A queda no apetite em resposta a vacinação poderia explicar parcialmente a queda no CR das aves vacinadas. Aos 7, 14 e aos 21 dias, as quedas nos consumos de ração foram, respectivamente, de 0,8%, 2,84 % e 11,87 %. A elevação na queda do CR ao longo do período experimental mostra que a queda no CR das aves vacinadas não deveria ser atribuída exclusivamente à queda no apetite, pois esta, quando presente, se manifesta em um curto período de tempo após a vacinação.

Van Eerden et al. (2004) isolando o efeito da redução no consumo de ração em decorrência da resposta imune, encontraram que a resposta imunitária utiliza cerca de 9% da exigência nutricional, o que segundo os autores pode afetar os parâmetros produtivos. A melhora na CA aos 21 dias, particularmente nas aves expostas a 48 e 72 horas de jejum mostra que o efeito benéfico do jejum sobre a CA foi potencializado pela vacina contra a BIG. Esta situação foi o reflexo do que ocorreu com o CR e com o GP na idade em questão, ou seja, houve redução no CR, enquanto o GP manteve-se inalterado.

Os resultados de desempenho inicial em matrizes de corte obtidos neste trabalho, em linhas gerais estão de acordo com várias pesquisas, onde se demonstrou que o atraso na alimentação pós-eclosão prejudica o desempenho, tanto em pintainhos de corte (PINCHASOV; NOY, 1993; BIGOT et al., 2003; GONZALES et al., 2003; ALMEIDA et al., 2006), como em perus neonatos (CORLESS; SELL, 1999; HAVELY et al., 2003).

De forma semelhante à ocorrida neste estudo, Corless e Sell (1999) encontraram que os períodos de jejum de 30 e de 54 horas reduzem o CR ao final de 28 dias de criação em perus. Também em consonância com nossos achados, Pinchasov e Noy (1993) observaram que pintainhos de corte mantidos em jejum pós-eclosão por 48 horas apresentam CR reduzido ao final de duas semanas de criação. Já Almeida et al. (2006) não encontraram efeito de 24 horas de jejum pós-eclosão sobre o CR aos 21 dias de frangos de corte. Gonzales et al. (2003) obtiveram resultado ligeiramente distinto do presente estudo, quanto ao efeito adverso do jejum sobre o CR. Os autores obtiveram CR reduzido ao final da criação em frangos de corte submetidos a 18 horas de jejum pós-eclosão.

Apesar da diversidade metodológica empregada entre os diversos estudos que avaliaram o efeito do jejum pós-eclosão sobre o GP, acredita-se que o prejuízo no GP de matrizes em resposta ao jejum é semelhante ao prejuízo observado em frangos de corte (PINCHASOV; NOY, 1992; BIGOT et al., 2003; GONZALES et al., 2003) e em perus (CORLESS; SELL, 1999). De fato, estudos mostraram que o GP de frangos de corte sujeitos a 48 horas de jejum pós-eclosão, tanto aos 7 dias (BIGOT et al., 2003), como aos 14 dias (PINCHASOV; NOY, 1992) foi reduzido. Corless e Sell (1999) mostraram que o jejum hídrico-alimentar pós-eclosão de 30 horas reduz o GP de perus aos 21 dias, enquanto o jejum de 54 horas reduz o GP aos 28 dias.

Entretanto, 18 horas de jejum hídrico-alimentar em frangos de corte reduz o GP na idade de abate (GONZALES et al., 2003). O contraste entre o estudo de Gonzales et al., (2003) e o presente estudo, sugere que frangos de corte são mais sensíveis a curtos períodos de privação de alimento do que matrizes de corte. Isto porque, na atual pesquisa, matrizes sujeitas a 24 horas de jejum tiveram o mesmo GP de matrizes alimentadas ao alojamento.

Um achado comum entre todos os estudos mencionados foi a presença de GP compensatório após a realimentação, no entanto nem sempre há uma plena recuperação do peso, seja na idade de abate (GONZALES et al., 2003), ou no período de coleta experimental (PINCHASOV; NOY, 1992; CORLESS; SELL, 1999; BIGOT et al., 2003). De acordo com Noy e Sklan (1997), o GP compensatório pode ser atribuído a diminuição do requerimento energético de manutenção e número de adipócitos.

No estudo atual, quanto maior o período de jejum empregado, maior o GP compensatório nas fases subseqüentes (14 e 21 dias), isto mostra que houve uma resposta fisiológica para atingir o peso determinado pelo potencial genético da linhagem. Contudo, ao final do período experimental, o desempenho das aves submetidas a longos períodos de jejum (48 e 72 horas) foi inferior às demais. Provavelmente, tal resposta possa ser explicada pela privação de alimento ter ocorrido muito cedo, concordando com os estudos de Gonzales et al. (2003), Winick e Noble (1966) e Moran (1978). De acordo com Noble et al. (1986), a capacidade de recuperação do crescimento, que ocorre após um período de privação de alimento, depende do estado fisiológico do animal, pois quando o jejum alimentar é aplicado nos estágios iniciais de desenvolvimento, há um comprometimento na hiperplasia celular.

O efeito do jejum sobre a CA apresenta resultados controversos à literatura, há relatos de melhora na CA em resposta ao jejum em frangos (ALMEIDA et al., 2006; MORAN, 1978), enquanto outros estudos não encontraram efeito do jejum sobre a eficiência alimentar de frangos (BAIÃO; CANÇADO, 1998; NIR; LEVANON, 1993; VIEIRA; MORAN, 1999). Nestes estudos a CA, é influenciada, tanto pelo potencial de GP compensatório da ave estudada, como pelas extensões do jejum e do período compreendido entre o término do jejum e a coleta dos dados.

De acordo com Bigot et al. (2003), embora 48 horas de jejum hídrico-alimentar reduzam o CR de frangos aos 7 dias, quando se expressa o CR relativo ao peso corporal, o mesmo efeito não é observado. Os autores encontraram que o CR relativo, até dois dias depois da realimentação é menor que o CR relativo de pintainhos alimentados ao alojamento, no entanto no terceiro dia após a realimentação esta situação se inverte, permanecendo assim até o fim da primeira semana de vida. De acordo com Noy e Sklan (1997), as reduções na proliferação de enterócitos e no

crescimento dos órgãos do trato gastrointestinal, em decorrência do jejum pós-eclosão de 48 horas, reduzem a função intestinal por um período considerável, o que pode se refletir em uma pior eficiência na utilização dos alimentos.

Assim, ao compararmos a CA do grupo de aves alimentadas ao alojamento com os demais, além de considerarmos as quedas de CR e GP inerentes ao tempo que as aves permaneceram em jejum, o GP compensatório após a realimentação e o intervalo de tempo entre o fim do jejum e a coleta dos dados, devemos levar em conta o período de melhor ou pior eficiência alimentar (CR relativo ao peso corporal) após a realimentação.

O balanço mais favorável entre estas variáveis permitiu que as aves mantidas em jejum por 48 horas obtivessem, aos 7 dias, melhor índice de CA que as alimentadas ao alojamento. Provavelmente, aos 14 dias, a má eficiência alimentar das aves sujeitas a longos períodos de jejum (48 e 72 horas) superou o GP compensatório. A situação inversa deve ter ocorrido entre 14 e 21 dias, ou seja, neste período as aves que receberam 48 e 72 horas de jejum após o alojamento provavelmente apresentaram melhora na utilização dos nutrientes, assim o efeito do GP compensatório promoveu redução em sua CA.

Provavelmente o jejum prolongado em uma fase tão importante do desenvolvimento da matriz, além de afetar seu GP, pode se traduzir em uma curva de crescimento inadequada. Considerando que empresas de matrizes têm considerado mais importante para a obtenção de bons resultados de produção a uniformidade do lote e a forma de sua curva de crescimento do que o peso às 20 semanas (FISHER, 1999), os longos períodos de jejum pós-eclosão enfrentados por matrizes devem receber atenção dos profissionais envolvidos em sua criação.

Desta forma, embora matrizes de corte sejam aves de vida longa e de crescimento corporal controlado, acredita-se que as aves não devem ser submetidas a períodos maiores de 24 horas de jejum após seu nascimento, visto que ao receber a alimentação em seu primeiro dia de vida, a ave dá um importante salto em seu desenvolvimento, o qual pode ser traduzido em uma adequada curva de crescimento, e conseqüentemente características conformacionais e parâmetros produtivos desejáveis.

### Desenvolvimento de vísceras gastrintestinais e absorção do saco vitelínico

Os dados do presente estudo, quanto ao efeito da vacina contra a BIG, sobre o desenvolvimento das vísceras gastrintestinais trazem contribuição em uma área pouco estudada até o momento. Na primeira parte deste capítulo foi possível observar que o vírus vacinal promoveu queda no GP aos 7 dias. Esta queda no GP das matrizes vacinadas não foi seguida de nenhum prejuízo notável sobre as vísceras gastrintestinais. No entanto, mais estudos envolvendo a vacinação contra a BIG com vacina viva atenuada são requeridos para tentar elucidar qual o significado da maior absorção de gema, ao 1º dia de vida nas aves vacinadas.

Embora hajam pequenas divergências, provavelmente, devido a diferentes metodologias e espécies aviárias empregadas entre os trabalhos, os dados do presente estudo, quanto a influencia do jejum sobre o crescimento alométrico de vísceras do trato gastrintestinal e sobre a taxa residual de vitelo no saco vitelínico, em linhas gerais, estão de acordo com a literatura consultada.

Em convergência com os achados do presente estudo, pesquisas em frangos (AKIBA; MURAKAMI, 1995; KATANBAF; DUNNINGTON; SIEGEL, 1988) e em perus (SELL et al., 1991;) apontaram que o crescimento dos órgãos gastrintestinais (proventrículo, moela, e intestino delgado) excede o crescimento corporal durante a primeira semana de vida.

A maior parte dos nutrientes disponíveis durante a 1ª semana de vida das aves destina-se ao desenvolvimento do trato gastrintestinal o que favorece a utilização dos nutrientes adquiridos a partir da dieta exógena, permitindo secundariamente um rápido crescimento corporal. No entanto, quando os nutrientes não estão disponíveis, como em condições de jejum prolongado, há redução no crescimento dessas vísceras. De fato, após 48 horas de jejum pós-eclosão, pintainhos de corte apresentaram crescimento reduzido dos órgão gastrintestinais como um todo (NOY; SKLAN, 1997).

Neste trabalho, o crescimento de 19,52% da moela, entre o nascimento e o 3º dia de vida, nas aves mantidas em jejum mostra que o desenvolvimento desta víscera mesmo em condições de jejum é prioridade para a ave. A elevação do crescimento alométrico, ao término de 72 horas de jejum, pode ser atribuída, tanto a queda no peso das aves em resposta ao jejum, como ao crescimento absoluto da víscera. Desta forma,

estas duas circunstâncias devem ser levadas em conta quando se avalia o peso da víscera em termos relativos. De fato, o peso relativo da moela de perus neonatos (PINCHASOV; NOY, 1993; CORLESS; SELL, 1999) e de pintainhos de corte (PINCHASOV; NOY, 1993) é elevado em resposta a longos períodos de jejum pós-eclosão, tanto pela redução no peso da ave, como por um ligeiro aumento no peso da víscera. O estudo de Pinchasov e Noy (1993) mostrou que após 48 horas de jejum pós-eclosão há elevação no peso relativo da moela em frangos de corte e em perus. Corless e Sell (1999) obtiveram elevação no peso relativo da moela aos 2 dias de vida de perus mantidos em jejum por 30 horas antes do alojamento. No entanto, no mesmo estudo, aos 3, 4 e 5 dias de vida, o peso relativo da moela não diferiu entre perus alimentados ao alojamento e aqueles alimentados com 30 ou 54 horas de atraso.

O crescimento absoluto do proventrículo ao final de 72 horas de jejum foi bem inferior ao crescimento da moela no mesmo período, o que é evidenciado pelos resultados opostos de crescimento alométrico entre as duas vísceras no período em questão. Tal resultado sugere que embora as duas vísceras sejam dependentes da dieta exógena, o crescimento do proventrículo é mais sensível à privação alimentar pós-eclosão que a moela. De acordo com Furlan, Macari e Sugeta (2002), o período em que as aves permanecem em jejum diminui, consideravelmente, o crescimento do proventrículo e a secreção gástrica, e desta forma a capacidade digestiva.

Alguns pesquisadores apontaram aumento no peso relativo do fígado durante o jejum hídrico-alimentar em pintainhos de corte e perus (MORAN, 1990; PINCHASOV; NOY, 1993), outros mostraram a redução no peso absoluto desta víscera em frangos mantidos em jejum por 72 horas comparativamente aos alimentados ao alojamento (PIRES; MALHEIROS; BOLELI, 2007). Corless e Sell (1999), ao aplicar 30 horas de jejum pós-eclosão em perus, não observaram alteração no peso absoluto do fígado destas aves em relação ao grupo controle, no entanto, quando o jejum foi ampliado para 54 horas, o peso absoluto fígado das aves expostas ao jejum foi inferior ao das alimentadas ao alojamento.

Possivelmente, o aumento no peso do fígado em condições de jejum prolongado ocorre porque os triglicerídeos da gema são mobilizados e depositados no fígado. De fato, os triglicerídeos presentes na gema, tanto no decorrer da embriogênese, como na



vida pós-natal são mobilizados e depositados no fígado (NOBLE; COCCHI, 1990; PINCHASOV; NOY, 1993). Os primeiros observaram aumento no peso do fígado acompanhado de redução no peso da gema em perus mantidos em jejum por 48 horas. Estes achados são comuns aos do presente estudo, no qual ao final de 72 horas de jejum, observou-se redução de 58,69% no peso do saco vitelínico (dados não mostrados) e aumento do peso absoluto do fígado de 16%.

Apesar do fígado crescer em condições de privação de alimento, após a alimentação há um aumento expressivo na taxa de crescimento do fígado. É provável que estes achados tenham relação com as funções hepáticas, pois embora o fígado seja muito importante para a homeostase orgânica durante o jejum prolongado, sendo requerido principalmente no processo de gliconeogênese, a medida que se inicia o processo digestivo este órgão amplia sua atividade, participando da digestão através da secreção da bile bem como da estocagem de carboidratos, gorduras e vitaminas.

Segundo Noy e Sklan (1999), a maior parte da energia e proteínas da dieta é direcionada para o desenvolvimento do intestino, assim, a carência destes nutrientes causados pelo jejum explica as reduções no crescimento alométrico e no comprimento do intestino das matrizes submetidas ao maior período de jejum.

O efeito prejudicial do jejum sobre o comprimento intestinal foi objeto de estudo de Corless e Sell (1999), os quais, ao compararem perus neonatos sujeitos a 30 horas de jejum com outros alimentados ao alojamento, encontraram redução por efeito direto do jejum nos comprimentos do duodeno e do jejuno, respectivamente, aos 2 e aos 5 dias de vida. O comprimento intestinal, bem como o peso relativo intestinal foram prejudicados em frangos de corte após 18 e 36 horas de jejum, sendo os maiores prejuízos verificados nas aves sujeitas ao maior período de jejum (Gonzales et al., 2003).

Nesta pesquisa, ao término de 72 horas de jejum, o peso absoluto do intestino de matrizes aumentou 38,80%, o que é condizente com os achados de Corless e Sell (1999), os quais encontram, ao final de 2 dias de jejum, 43,20% de crescimento absoluto no intestino delgado de perus. De acordo com Noy e Sklan (1999), o crescimento inicial preferencial do intestino delgado ocorre independentemente da presença de alimento, embora na ausência de dieta exógena, tanto o crescimento

absoluto, como o relativo do intestino são diminuídos. De acordo com os mesmos autores, nas aves expostas ao jejum os substratos para este crescimento provêm da gema.

Na pesquisa atual acentuado crescimento do intestino foi observado após a alimentação das matrizes, o que pode ser evidenciado pela inversão do perfil do gráfico aos 7 dias. Resultado semelhante foi relatado por Corless e Sell (1999), os quais encontraram, 24 horas após o término do jejum, elevação no peso do duodeno e do jejuno de perus, respectivamente, de 135% e 100%, o que não foi acompanhado de melhora no GP aos 28 dias.

Ainda perus mantidos em jejum por 30 horas após o alojamento, apresentam crescimento do intestino delgado mais elevado que o crescimento corporal até o quinto dia de vida, todavia quando submetidos a 54 horas de jejum esta situação permaneceu até o 15º dia (CORLESS; SELL, 1999). Neste trabalho, independentemente do jejum, a taxa de crescimento intestinal das aves superou o crescimento corporal durante todo período experimental. Provavelmente, a diferença entre o estudo de Corless e Sell (1999) e o presente possa ser explicada pela curva de crescimento de perus ser mais pronunciada que a de matrizes de corte. No entanto, apesar da diferença mencionada, a diferença no crescimento alométrico do intestino aos 21 dias de vida, entre matrizes expostas a 72 e a 24 horas de jejum, com as alimentadas ao alojamento, mostra que o jejum prolongado em matrizes, assim como em perus, atrasa o crescimento intestinal.

Noy e Sklan (1997) afirmaram que a falta de alimento em fases bem precoces do desenvolvimento de pintainhos de corte pode causar o uso inadequado do resíduo de vitelo, o que segundo os autores, está relacionado com a baixa estimulação do trato gastrintestinal. Todavia, o vitelo da gema pode ser transportado diretamente à circulação (NOY; UNI; SKLAN, 1996).

Vários estudos com perus e frangos de corte mostraram que o atraso na ingestão de alimento por 48 horas reduz a absorção de vitelo (MORAN; REINHART, 1980; MORAN, 1989; PINCHASOV; NOY, 1993), todavia neste estudo, o atraso no fornecimento de ração de 48 horas não proporcionou tal resposta. Por outro lado, as taxas residuais de saco vitelínico nas matrizes submetidas a 24 horas ou menos de jejum são condizentes com os achados de Gonzales et al. (2003), os quais também não

encontraram diferença para esta variável em pintainhos de corte submetidos a 36 horas de jejum.

Apesar da discrepância entre os estudos, deve-se notar que existem algumas diferenças entre os protocolos experimentais dos estudos citados, tais como período de jejum total, tempo de coleta e espécie aviária envolvida. Aparentemente a absorção do vitelo da gema parece ser reduzida quando as aves são submetidas a períodos de jejum superiores a 48 horas.

Por exemplo, Corless e Sell (1999) avaliaram os pesos absoluto e relativo do saco vitelínico do 1º ao 5º dia, não encontrando diferenças entre aves alimentadas ao alojamento e as mantidas em jejum por 30 horas, no entanto, aves sujeitas a 48 ou a 54 horas de jejum pós-eclosão apresentaram estas duas variáveis elevadas em relação ao grupo controle aos 5 dias de vida.

A absorção do vitelo em aves mantidas em jejum por períodos prolongados pode ser a mais importante fonte de energia. Segundo Nitsan, Bem-Auraham e Zoref (1991), os recursos da gema devem corresponder a 50% do suprimento total de energia do pintainho, o que deveria acelerar a sua utilização. Entretanto, aves mantidas em jejum por longos períodos têm baixo desenvolvimento gastrintestinal, metabolismo e crescimento corporal, o que gera tamanha redução em suas necessidades energéticas, que mesmo na ausência de alimento a absorção de vitelo passa a ser inferior a de aves alimentadas (GONZALES et al., 2003).

Além disso, é importante mencionar que na presença de necessidades metabólicas agudas o tecido muscular pode ser metabolizado para atender as necessidades básicas de sobrevivência do pintainho. Neste sentido, Pinchasov e Noy (1993) observaram diminuição acentuada no teor de gordura e proteína corporal de pintainhos de corte mantidos em jejum por 48 horas após o alojamento.

A partir do sétimo dia, muitas aves apresentaram valor residual de gema desprezível. Resultados semelhantes foram publicados por Nir, Nitsan e Mahagna (1993), para os quais, tanto aves de corte, como de postura comercial, alimentados ao alojamento, apresentaram peso do saco vitelínico desprezível a partir do 4º dia de vida. Para Sell et al. (1991) o esgotamento da gema ocorre entre o 5º e o 6º dia.

Desta forma, embora o crescimento das vísceras gastrintestinais de matrizes de corte não seja muito afetado por curtos períodos de jejum (24 horas), ficou bem estabelecido que o prolongado período de jejum hídrico-alimentar pós-eclosão influi negativamente sobre o desenvolvimento dos órgãos do trato gastrintestinal, o que intensifica o prejuízo no crescimento das matrizes.

Por outro lado, foi possível observar uma rápida recuperação no crescimento das vísceras gastrintestinais das matrizes em resposta compensatória à ingestão de ração, o que provavelmente traduziu-se em uma melhora no potencial digestivo, absorptivo e metabólico. Esta recuperação, associada a uma provável queda no requerimento energético devido à queda de peso em decorrência do jejum prolongado, justifica os achados de GP compensatório das aves submetidas aos maiores períodos de jejum mencionados na seção anterior.

No entanto, para uma melhor compreensão da origem dos prejuízos zootécnicos observados nas matrizes a análise de fatores físicos do sistema gastrintestinal, como o comprimento das vilosidades, fez-se necessária.

#### Parâmetros morfométricos do intestino delgado

Como a estirpe vacinal utilizada na presente pesquisa é atenuada e não possui a mesma virulência de estirpes de campo com tropismo pelo epitélio intestinal, embora possível, é pouco provável que a replicação do vírus no epitélio intestinal possa influenciar a profundidade das criptas e a altura das vilosidades intestinais. O VBIG tem sido identificado como causador de infecção no trato gastrintestinal das aves (GUY, 1998). Ao se replicarem no citoplasma das células da mucosa intestinal, os vírus são acumulados no interior de vesículas e podem deixar a célula diretamente através da lise da célula infectada ou através de sua migração e fusão das membranas da vesícula com a membrana celular (WEGE; SIDDEL; MEULEN, 1982). Guy (1998) retratou atrofia de vilosidades e perda de microvilosidades em perus infectados por coronavírus com tropismo entérico. A lise celular poderia explicar as reduções na AVI, na PCI e na PCD. No entanto, as elevações encontradas na AVD, bem como na PCD não poderiam ser explicadas desta maneira.

Como o efeito direto do vírus vacinal não explica totalmente as alterações encontradas na morfologia intestinal, os seus efeitos indiretos sobre o epitélio intestinal devem ser levantados. Os gastos energéticos com a geração da resposta imune em si e com a formação da resposta inflamatória, associados à queda no CR, podem reduzir a disponibilidade energética das aves vacinadas. Como o gasto energético de manutenção do intestino é elevado (BOLELI; MAIORKA; MACARI, 2002), a redução na disponibilidade energética poderia limitar a capacidade de renovação celular na mucosa intestinal. Desta forma, haveria redução na altura das vilosidades e na profundidade das criptas, o que justificaria parcialmente os achados de morfometria intestinal do presente estudo [AVI (14 dias), PCI (7 e 14 dias), PCD (7 dias)]. Todavia alguns achados seguiriam sendo inesperados [AVD (14 dias), PCD (3 e 14 dias)].

Uma terceira abordagem, quanto ao efeito da vacina sobre o epitélio intestinal (altura das vilosidades e profundidade de cripta), poderia ser que a redução no CR das aves vacinadas poderia influenciar alguns hormônios plasmáticos. Assim, estes hormônios modulariam de forma distinta a proliferação dos enterócitos, entre aves vacinadas e não vacinadas.

O efeito do jejum pós-eclosão sobre a altura das vilosidades ao longo do intestino delgado de matrizes, em linhas gerais, é semelhante à literatura consultada (NOY; SKLAN, 1997; GEYRA; UNI; SKLAN, 2001; SKLAN, 2001; GONZALES et al., 2003), no entanto, algumas diferenças foram encontradas.

De acordo com Noy e Sklan (1997), aves mantidas em jejum hídrico-alimentar por 48 horas apresentam redução na altura das vilosidades 48 horas após o alojamento, no entanto a maior redução na altura das vilosidades e na densidade de enterócitos por vilos ocorre 5 a 6 dias após. No presente estudo, aos 7 dias de vida, foi possível avaliar a maior redução na altura das vilosidades do jejuno das aves sujeitas a 24, 48 e 72 horas de jejum, no entanto, tal efeito não ocorreu no íleo e foi observado aos 14 dias de vida no duodeno.

Gonzales et al. (2003), em um estudo envolvendo frangos de corte mantidos em jejum por 18 a 36 horas após o alojamento, constataram que ao término do jejum a altura das vilosidades em todo intestino delgado foi reduzida em resposta ao jejum. De forma semelhante, neste trabalho, após 72 horas de jejum, a altura das vilosidades das

matrizes em todo intestino delgado foi inferior a das matrizes alimentadas ao alojamento.

O jejum prolongado causou prejuízo sobre a função absorptiva intestinal durante um período considerável, pois as recuperações na AVJ e na AVD das matrizes submetidas a 72 horas de jejum foram obtidas aos 14 e 21 dias, respectivamente. Isto associado ao prejuízo do jejum sobre as vísceras gastrintestinais ajudaria explicar o prejuízo durante todo período experimental no GP das aves sujeitas aos maiores períodos de jejum pós-eclosão. De fato, Noy e Sklan (1997) mostraram que pintainhos de corte restritos por 48 horas apresentaram redução na altura dos vilos aos 8 dias de vida, e correlacionaram tais achados com menor peso ao abate. De maneira semelhante, alguns estudos mostraram que alterações no comprimento do intestino, na área das vilosidades e no desenvolvimento das criptas em decorrência do jejum resultaram em piora no desempenho inicial e ou final em aves de corte (GEYRA; UNI; SKLAN, 2001; SKLAN, 2001).

O prejuízo no peso de abate de frangos expostos ao jejum pós-eclosão prolongado, poderia ser muito maior caso não houvesse, ao término do jejum, uma resposta compensatória que promovesse o aumento das vilosidades (GEYRA; UNI; SKLAN, 2001). Extrapolando estes achados para a criação de matrizes, sendo estas aves de vida longa, fatalmente a resposta compensatória observada aos 21 dias, tanto na AVD, como na AVJ, iguala a capacidade absorptiva entre as matrizes sujeitas a diferentes períodos de jejum. No entanto, é possível que o efeito do jejum prolongado em um momento tão expressivo do desenvolvimento da ave possa influir sobre sua curva de crescimento e conseqüentemente reduzir seu potencial produtivo.

O efeito do jejum prolongado sobre a profundidade de cripta nos segmentos do intestino delgado não foi verificado a partir do sétimo dia de vida das matrizes, evidenciando a intensa capacidade de proliferação celular das criptas. Apesar da recuperação na profundidade de cripta ao longo do intestino delgado, deve-se evidenciar a severidade que o jejum de 48 e 72 horas exerceram neste estudo sobre uma variável pouco alterável. Provavelmente diferenças entre linhagens no tocante a capacidade proliferativa existente nas criptas e o período de jejum utilizado, sejam

alguns dos fatores responsáveis pelos resultados divergentes encontrados na literatura quanto ao efeito do jejum sobre a profundidade de cripta.

A redução inicial encontrada na profundidade de cripta dos vilos não foi observada por Loddi (2003), bem como por Nakage (2007). Para estes autores, em decorrência do aumento na taxa de perda celular e posterior redução do vilos decorrente do jejum, há um aumento na produção de células da cripta, e geralmente, aumento na profundidade da cripta.

Entretanto, os resultados do presente estudo corroboram com Geyra, Uni e Sklan (2001), em pesquisa realizada em pintainhos de corte mantidos em jejum por 48 horas. Os autores obtiveram redução de 25 a 40% na proliferação celular das criptas de todos os segmentos do intestino delgado, a qual foi acompanhada de diminuição do número de células por cripta do duodeno e do jejuno do segundo ao sexto dia após a eclosão. A diminuição do número de células presentes na cripta poderia justificar a diminuição aos 3 dias, na profundidade de cripta das aves sujeitas a 48 e a 72 horas de jejum.

A recuperação na profundidade de cripta observada neste projeto também foi verificada por Geyra, Uni e Sklan (2001). No estudo em questão, foi possível observar que dois dias após a alimentação a taxa de proliferação celular nas criptas do intestino delgado cresceu 25%, o que explicita a recuperação da atividade mitótica da cripta. De forma semelhante, ratos adultos em jejum possuem atividade mitótica na cripta reduzida, no entanto 1 dia após a realimentação a maioria das células da cripta é estimulada a entrar no ciclo celular (HODIN et al., 1994), o que aumenta a proliferação e a migração de enterócitos da cripta para as vilosidades.

O aumento na profundidade de cripta após a alimentação das aves no estudo presente, possivelmente supriu as células necessárias ao crescimento das vilosidades do intestino delgado, e conseqüentemente pode estar relacionado ao GP compensatório observado nos períodos seguintes. Embora não se deve desconsiderar que o crescimento do vilos em resposta ao jejum pode ocorrer pela proliferação dos enterócitos presentes no próprio vilos (GEYRA; UNI; SKLAN, 2001).

Além dos fatores, já mencionados (duração do jejum e capacidade proliferativa da cripta), que invocariam sobre as divergências encontradas na literatura quanto ao efeito do jejum sobre a profundidade de cripta, possivelmente diferenças metodológicas

possam estar envolvidas. Tanto este trabalho como o de Loddi (2003) basearam-se em cortes longitudinais e na microscopia de luz, enquanto o estudo de Geyra, Uni e Sklan (2001) envolveu a contagem de células marcadas com antígeno específico.

Contagem de células caliciformes.

Parte das alterações na contagem de células caliciformes PAS+ entre aves vacinadas e não vacinadas podem ser explicadas como reflexo das alterações ocorridas na altura das vilosidades intestinais. Dentre elas, a redução da CCCD das aves vacinadas aos 14 dias deve ser o reflexo do aumento de 7,4 % na altura das vilosidades do segmento em resposta ao vírus vacinal. Desta forma, a redução na altura das vilosidades proporcionou maior densidade de células caliciformes produtoras de mucina neutra (PAS+) (GEYRA, UNI e SKLAN, 2001). Apesar de não ter sido verificado efeito estatístico da vacina contra a BIG sobre a AVJ aos 14 dias, nesta idade houve elevação de 6,6% na altura das vilosidades das aves vacinadas. Esta elevação poderia ser responsável pela redução na CCCJ observada nas aves vacinadas na idade em questão.

Por outro lado, o raciocínio de que as alterações nas contagens celulares, entre as aves vacinadas e não vacinadas, são o reflexo do efeito vacinal sobre a altura das vilosidades não explica outras circunstâncias. Dentre elas, a elevação na CCCJ aos 3 dias de vida das aves vacinadas, a qual não foi acompanhada de redução na AVJ. Ainda, apesar de ter ocorrido alteração na altura das vilosidades do íleo em resposta ao vírus vacinal, esta não se refletiu em alteração na densidade de células caliciformes PAS+ do íleo. Os achados de Geyra, Uni e Sklan (2001) poderiam justificar tal resultado. De acordo com os autores, a contagem de células caliciformes no íleo é menos sensível a alteração que no jejuno e no duodeno.

Devido à complexidade das interações que envolvem a infecção por um coronavírus como o VBIG sobre a morfometria do trato gastrointestinal, parte dos efeitos vacinais na altura das vilosidades, na profundidade das criptas e na contagem de células caliciformes do intestino delgado são de difícil compreensão. Desta forma, mais estudos, envolvendo a interface entre imunologia e fisiologia do trato gastrointestinal, serão necessários para que as dúvidas ora levantadas sejam esclarecidas.



Os dados do presente estudo mostram que as contagens de células caliciformes PAS+ nos diferentes segmentos do intestino delgado elevaram-se com o aumento do período de jejum, sendo verificada elevação entre o 3º e o 14º dia no duodeno e no jejuno, e aos 7 dias no íleo. O atraso no fornecimento da primeira alimentação promoveu redução na altura dos vilos do intestino delgado, possivelmente tal redução esteja relacionada à diminuição na proliferação e no número de enterócitos, o que proporcionou maior densidade de células caliciformes produtoras de mucina neutra (PAS+) (GEYRA; UNI; SKLAN, 2001).

Os efeitos do jejum sobre a densidade de células caliciformes do presente estudo estão, em partes, de acordo com Uni, Smirnov e Sklan (2003). De maneira semelhante ao presente estudo, os autores observaram elevação na densidade de células caliciformes PAS+ no duodeno e no jejuno em resposta ao jejum pós-eclosão de 48 horas, respectivamente, no 2º dia e entre o 2º e o 3º dia de vida. No entanto, no estudo citado a densidade de células PAS+ no íleo não foi afetada. Contudo, Nakage (2007) encontrou elevação na densidade de células caliciformes PAS+ em todo intestino delgado em resposta ao jejum pós-eclosão, com efeito mais pronunciado no íleo.

De forma semelhante à descrita por Uni, Smirnov e Sklan (2003) e por Nakage (2007), as células caliciformes do jejuno de aves mantidas em jejum por 48 horas apresentaram aumento de área bem evidente em relação ao grupo controle (Figura 1). Como a camada de muco desempenha papel importante na proteção da mucosa intestinal e no transporte de substâncias, entre a luz intestinal e a membrana borda em escova, sua liberação reduzida à luz intestinal implicaria em prejuízos adicionais do jejum sobre a função intestinal. Todavia, Uni, Smirnov e Sklan (2003) e Nakage (2007) não souberam afirmar ao certo, se o aumento na área das células caliciformes em circunstâncias de jejum prolongado, ocorre devido à diminuição na secreção de mucina neutra na luz intestinal, ou em decorrência do aumento em sua produção.

## Conclusões

Longos períodos de jejum pós-eclosão (48 e 72 horas) prejudicam o crescimento alométrico dos órgãos do trato gastrintestinal, promovem reduções na altura das vilosidades, na profundidade das criptas intestinais, bem como elevam a densidade de células caliciformes produtoras de mucina neutra.

A vacina contra a bronquite infecciosa das galinhas não afeta o crescimento alométrico dos órgãos gastrintestinais, influencia parâmetros de morfometria intestinal (AV, PC, CCC), e reduz, tanto o GP aos 7 dias, como os valores de CA e CR aos 21 dias.

## Referências

- AKIBA, Y.; MURAKAMI, H. **Partitioning of energy and protein during early growth of broiler chicks and contribution of vitelline residue.** Proceedings of the 10<sup>th</sup> European symposium on Poultry Nutrition, Antalya, Turkey, 1995.
- ALMEIDA, J. G.; VIEIRA, S.L.; GALLO, B.B.; CONDE, O.R.A.; OLMOS, A.R. Period of incubation and posthatching holding time influence on broiler performance. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.8, p. 153-158, 2006.
- BAIÃO, N. C.; CANÇADO, S. V. Efeito do intervalo de tempo entre o nascimento e o alojamento de pintainhos sobre o desempenho de frangos. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 321-327, 1998.
- BARANYIOVA, E. Influence of deutectomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.41, p.373-384, 1972.
- BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.45, p.151-158, 1976.
- BIGOT, K.; MIGNON-GRASTEAU, S.; PICARD, M.; TESSERAUD, S. Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.781-788, 2003.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.** Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.113-120.
- CALIXTO, L.F.L. **Relação entre o crescimento corporal e crescimento de alguns componentes do sistema digestivo de frangos de corte.** 1988. 64f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CHRISTENSEN, V.L. Development during the first seven days post-hatching. In: BAGGOT, G.K.; BAKST, M.R.; BELLAIRS, R.; CHRISTENSEN, V.L.; FASENFKO, G.M.; STARCK, J.M. **Perspectives in fertilization and embryonic development in poultry.** Oxford: Ratite Conference Books, 2001. p. 31-36.

- COOK, M. E. Nutritional effects on vaccination. **Advances in Veterinary Medicine**, v.41, p. 53-59, 1999.
- CORLESS, A. B.; SELL, J. L. The effects of delayed access to feed and water on the physical and functional development on the digestive system of young turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v.78, p.1158–1169, 1999.
- DECUYPERE, E; BRUGGEMAN, v. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, Champaign, v.86, p. 1037–1042, 2007.
- DECUYPERE, E.; K. TONA, K.; BRUGGEMAN, V.; BAMELIS, F. 2001. The day-old chick, a crucial hinge between breeders and broilers. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.57 p. 127–138.
- FISHER, C. **New approaches in broiler breeder nutrition**. Proceedings of the 10<sup>th</sup> European Conference, Jerusalem, p.247-264, 1999.
- FORSTNER, J. F.; FORSTNER, G. G. Gastrointestinal mucus. In: Johnson, L.R. **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York: Raven Press, 1994. p. 1255-1283.
- FORSTNER, J. F.; OLIVER, M. G.; SYLVESTER, F. A. Production, structure and biologic relevance of gastrointestinal mucins. In: Guerrant, R.L. **Infections of gastrointestinal tract**. New York: Raven Press, 1995. p. 71-88.
- FURLAN, R. L.; MACARI, M.; SUGETA, S. M. Secreções Gastrintestinais. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.105-111.
- GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. The effect of fasting at different ages on growth and the tissue dynamics in the small intestine of young chick. **British Journal of Nutrition**, London, v.86, p. 53-61, 2001.
- GOMIDE, M.H.J.; STERZO, E. V.; PIRES, D. L. Efeitos da injeção de ácido ascórbico in ovo sobre a integridade dos vilos intestinais de pintainhos fêmeas submetidos a jejum pós-eclosão. **Anais do XV Congresso de Iniciação Científica – UNESP**. Marília, 2003.
- GONZALES, E.; KONDO. N.; SALDANHA, E. S.; LODDY, M. M.; CAREGHI, C.; DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.1250-1256, 2003.

- GUY, J. S. Virus infections of the gastrointestinal tract in poultry. **Poultry Science**. Champaign, v.77, p.1166-1175, 1998.
- HAGER, J. E.; BEANE, W. L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.62, p.247-254, 1983.
- HAVELY, O.; NADEL, Y.; BARAK, M.; ROSENBOIM, I.; SKLAN, D. Early posthatch feeding stimulates satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in turkey poults. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.133, p.1376-1382, 2003.
- HODIN, R. A.; GRAHAM, J. R.; MENG, S.; UPTON, M. P. Temporal pattern of rat small intestinal gene expression with refeeding. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v.251,p.124-131, 1994.
- KATANBAF, M. N.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Allometric relationships from hatching to 56 days in parenteral lines and F1 crosses of chicken selected 27 generations for high and low BW. **Growth Dev**, v.52, p.11-22, 1988.
- KLASING, K. C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**. London, v.48, p.525-537, 2007.
- KLASING, K. C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. **Poultry Science**. Champaign, v.77, p.1119-125, 1998.
- LODDI, M.M. **Probióticos, prebióticos e acidificante organico em dietas para frangos de corte**. Jaboticabal, 2003, 52 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp.
- MIKEK, M.; BIDIN, A.; VALENTIC, A.; SAVIC, V.; AMSELZELENKA, T.; RAGUZ-DURIC, R.; NOVAK, I. L.; BALENOVIC, M. Influence of environmental and nutritional stressors on yolk sac utilization, development of chicken gastrointestinal system and its immune status, **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v.62, p.31-40, 2006.
- MORAN, E.T. JR. Effect of egg weight, glucose administration at hatch, and delayed access to feed and water on the poult at 2 weeks of age. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, p. 1718- 1723, 1990.
- MORAN, E.T. JR. Effects of posthatch glucose on poults fed and fasted during yolk sac depletion. **Poultry Science**, Champagn, v.68, p. 1141- 1147, 1989.

- MORAN, E. T. JR. Performance and carcass quality of broiler tom turkeys subjected to a post-hatch fast and offered starting rations of different nutrient concentration. *Can. J. Anim. Sci.* 58:233–243,1978.
- MORAN, E. T. JR.; REINHART, B. S. Poult yolk sac amount and composition upon placement: Effect of breeder age, egg weight, sex and subsequent change with feeding or fasting. **Poultry Science**, Champaign, v.59, p. 1521-1528, 1980.
- MURAKAMI, H.; AKIBA, Y.; HORIGUCHI, M. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal of residual yolk. **Growth Development and Aging**, Lakeland, v.56, p.75-84, 1992.
- NAKAGE, E. S. **Respostas fisiológicas de pintainhos submetidos a diferentes períodos de jejum: parametros hematologicos e intestinais.** 2007. 86 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciencias Agrarias e Veterinarias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- NITSAN, Z.; BEM-AURAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v.32, p.515-523,1991.
- NITSAN, Z.; DUNINGTON, E. A.; SIEGAL, P. B. Organ growth and digestive enzymes levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p.2040-2048, 1991.
- NIR, I.; LEVANON, M. Effect of post-hatch holding time on performance and on residual yolk and liver composition. **Poultry Science**, Champaign, v.72, p. 1994-1997, 1993.
- NIR, I.; NITSAN, Z.; MAHAGNA, M. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science**, London, v.34, p.523-532, 1993.
- NOBLE, R.C.; COCCHI, M. Lipid metabolism and neonatal chicken. **Progress in Lipid Research**, Scotland, v.29, p.107-140, 1990.
- NOBLE, R. C.; LONSDALE, F.; CONNOR, K.; BROWN, D. Changes in the lipid metabolism of the chick embryo with parental age. **Poultry Science**, Champaign, v.65, p.409-416, 1986.

- NOY, Y.; GEYRA, A.; SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, Champaign, v.80, p.912-919, 2001.
- NOY, Y.; UNI, Z.; SKLAN, D. Routes of yolk utilization in the newly-hatched chick. **Poultry Science**, Champaign, v.37, p.987-996, 1996.
- NOY, Y.; SKLAN, D. The effect of different types of early nutrition. **Journal Applied of Poultry Research**, Athens, v.8, p.16-24, 1999.
- NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development in poultry. **Journal Applied of Poultry Research**, Athens, v.6, p.344-354, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement of poultry. 9.ed. Washington: University press, 1994.
- PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v. 34, p. 111-120, 1993.
- PIRES, D. L.; MALHEIROS, E. B.; BOLELI, I. C. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, p. 221-228, 2007.
- SAS INSTITUTE. **SAS<sup>®</sup> user's guide: statistics**. Cary: SAS Institute INC., Cary, 2002.
- SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J.; MALLARINO, E. G.; AL-BATSHAN, H. A. 1991. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v.70, p.1200-1205, 1991.
- SHAMOTO, K.; YAMAUCHI, K. Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 718-723, 2000.
- SKLAN, D. Development of the digestive tract of poultry. **World's Poultry Science Journal**, Beekbergen, v.57, p.415-428, 2001.
- SHEHATA, A.T.; LERNER, J.; MILLER, D.S. Development of nutrient transport system in chick jejunum. **The American Journal of Physiology**, Bethesda, v.246, p.G101-107, 1984.
- TARACHAI, P.; YAMAUCHI, K. Effects of luminal nutrient absorption, intraluminal physical stimulation, and intravenous parenteral alimentation on the recovery responses

of duodenal villus morphology following feed withdrawal in chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.79, p.157-1585, 2000.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Post-hatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.75-82, 1998.

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effects of delayed access to feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, p.320-327, 2003.

VAN EERDEN, E.; VAN DEN BRAND, H.; PARMENTIER, H.K.; DE JONG, M.C.; KEMP, B. Phenotypic selection for residual feed intake and its effect on humoral immune responses in growing layer hens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.1602–1609, 2004.

VIEIRA, S.L.; MORAN, E.T. Effects of egg of origin and chicks post-hatch nutrition on broiler live performance and meat yields. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.55, p.125-142, 1999.

WEGE, H.; SIDDEL, S.; MEULEN, V. T. The biology and pathogenesis of coronaviruses. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.99, p.165-200, 1982.

WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various age. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.89, p.300-306, 1966.

YAMAUCHI, K.; KAMISOYAMA, H.; ISSHIKI, Y. Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in white leghorn hens. **British Poultry Science**, London, v.37, p.909-921, 1996.



### **CAPÍTULO 3 – RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MATRIZES NEONATAS, VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA BIG SUBMETIDAS A DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO.**

**RESUMO** - O presente trabalho foi desenvolvido em matrizes de frangos de corte com o objetivo de avaliar os efeitos da vacina, contra a bronquite infecciosa das galinhas (BIG), e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão (0, 12, 24, 48 ou 72 h), sobre características hematológicas e bioquímicas do sangue, na fase inicial de criação. Utilizou-se 720 matrizes que eclodiram em um intervalo pré-estabelecido de 8 h. As aves foram alojadas em câmaras climáticas e distribuídas em DIC em esquema fatorial 2 (vacinado ou não vacinado) X 5 período de jejum (0, 12, 24, 48, ou 72 h), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições de 18 aves. As aves vacinadas foram alojadas separadamente das não vacinadas. A vacinação foi realizada, após o alojamento, com vacina viva liofilizada contendo a amostra purificada H120 do VBIG. Após o término do período de jejum empregado em cada tratamento, as aves foram alimentadas *ad libitum*. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Matrizes submetidas ao jejum pós-eclosão, seguido de alimentação apresentaram alterações em todos os parâmetros analisados, exceção feita aos valores de hematócrito, de hemoglobina corpuscular média e ao percentual de heterófilos, sendo que os dois maiores períodos de jejum exerceram os maiores efeitos. Durante o período de alimentação pós-jejum experimental ocorreu recuperação de todas as variáveis estudadas. A vacina contra a BIG exerceu efeito sobre os parâmetros bioquímicos, sobre o hematócrito e sobre os percentuais de heterófilos e linfócitos. Os dados indicam que períodos de jejum pós-eclosão superiores a 48 h devem ser evitados e que o jejum moderado pode favorecer resposta imune vacinal.

**Palavras-Chave:** Bronquite infecciosa das galinhas, bioquímica sérica, hematologia, jejum pós-eclosão, matrizes, vacina

## Introdução

Com a finalidade de responder de forma satisfatória a agentes patogênicos, matrizes recém eclodidas são submetidas a um amplo programa de imunização, que se inicia no incubatório e é continuado a partir da chegada das aves ao galpão de recria. Esta prática não leva em conta o tempo de jejum que as aves permanecem entre sua eclosão e seu alojamento, o qual pode variar de 24 a 48 horas (HAGER; BEANE, 1983), podendo chegar a 72 horas.

Para responder adequadamente às vacinas e a agentes patogênicos, o sistema imune requer substratos (aminoácidos, energia e co-fatores enzimáticos) para suportar a proliferação clonal de linfócitos, dirigida a antígenos específicos, bem como para o recrutamento de heterófilos e de monócitos da medula óssea (KLASING, 1998). Nutrientes adicionais são requeridos para a produção de proteínas auxiliaadoras do sistema imune (sistema complemento e proteínas inflamatórias) pelo fígado (KLASING, 2007). O aumento pronunciado das proteínas hepáticas, durante a fase aguda da resposta imune, gera maior incremento na demanda por nutrientes para o sistema imune (KLASING, 2007). Nesta fase, há liberação (catabolismo protéico) e consumo de nutrientes no plasma (produção de proteínas de fase aguda e febre) (KLASING, 2007), o que pode se refletir em alterações nas concentrações de proteína e glicose plasmáticas.

Além de ocorrer na fase aguda da resposta imune, elevação na concentração de proteínas plasmáticas pode ser estabelecida em resposta à desidratação (CAMPBELL, 2004) e em situações de jejum hídrico-alimentar prolongado (MANNING et al., 1990; BERRONG; WASHBURN, 1998). Enquanto isso, a síntese de proteína plasmática fica marcadamente reduzida em animais com lesão hepática grave ou deficiência protéica dietética prolongada (SWENSON, 1996). Em condições subnormais de ingestão de alimento, a albumina plasmática serve como fonte protéica, podendo estar diminuída em pintainhos submetidos à restrição alimentar (YAMAN et al., 2002). Valores aumentados de albumina são patognomônicos de aves desidratadas (SAMOUR, 2006). Em aves, qualquer proteína plasmática que não seja albumina ou pré-albumina classifica-se como globulina. As globulinas são aumentadas em processos inflamatórios

(proteínas de fase aguda e imunoglobulinas), por exemplo em respostas vacinais. Valores reduzidos de globulina são observados em nefropatias e enterites necróticas.

Em contraste com a concentração das proteínas plasmáticas, a concentração de glicose plasmática é bastante resistente a alteração em codornas expostas ao jejum (SARTORY et al., 1995). No entanto, sob jejum prolongado pode ocorrer hipoglicemia (CAMPBELL, 2004), o que poderia afetar a resposta vacinal. Embora pouco estudado, o impacto da hipoglicemia sobre a série branca, parece diferir entre as distintas populações de leucócitos. Em situações de baixa disponibilidade de glicose, a produção de imunoglobulinas (resposta humoral) aparentemente é tratada com maior prioridade que a resposta celular. Estudos mostraram que em situações de deficiência nutricional as células da bursa possuem alta prioridade por glicose, isoleucina e lisina, enquanto, nas mesmas condições, as células do timo possuem baixa afinidade por estas moléculas (HALE et al., 1995; HUMPHREY et al., 2004; HUMPHREY et al., 2006). Todavia a redução de linfócitos T CD4+ também prejudica a produção de imunoglobulinas (KLASING, 2007).

Os nutrientes necessários para a geração de uma resposta vacinal satisfatória podem não estar disponíveis às aves em seus primeiros dias de vida, visto que, em condições de jejum pós-eclosão prolongado, sua única fonte de energia são as reservas lipoproteicas do saco vitelínico, cuja absorção pode estar diminuída nestas condições (GONZALES et al., 2003). Todavia, tanto a resposta imune mediada por células como a imunidade humoral podem ser melhoradas em pintainhos mantidos em jejum por curtos períodos (12 a 24 horas), presumivelmente devido a uma situação endócrina favorável (KLASING, 1988). Em contrapartida, o jejum prolongado promove elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona e alteração na contagem de leucócitos, o que pode interferir negativamente sobre a resposta imune celular e humoral (HOLT et al., 1992; HOCKING et al., 1993; CASTEEL, 1994; HOCKING et al., 1996; KUBIKOVA et al., 2001).

Existem relatos da ocorrência de alterações na contagem diferencial de leucócitos em decorrência de jejum. Maxwell et al. (1991) observaram basofilia e eosinofilia em resposta ao jejum prolongado em galinhas. Wight, Dewar e Mackenzie, (1980) verificou a presença de monocitose em decorrência de deficiência de zinco e

vários pesquisadores (GROSS; SIEGEL; DUBOUSE, 1980; DAVIDSON; FLACK, 1981; GROSS; SIEGEL, 1983; GONZALES et al., 2003; THRALL et al., 2004) apontaram a elevação da relação heterófilo/linfócito (H/L) indicadora de estresse em aves. A relação H/L também tem sido aplicada como critério de avaliação do desempenho na produção e reprodução de frangos (AL-MURRANI et al., 2006).

Alterações na série branca podem refletir tanto sobre a imunidade inata, como sobre a adaptativa. A primeira, mediada por macrófagos, heterófilos e linfócitos B do tipo 1, produtor de anticorpos inespecíficos, é eficaz contra a maioria dos agentes patogênicos potenciais. A segunda, mediada por linfócitos B tipo 2 e linfócitos T, ocorre em resposta a um antígeno específico, como as vacinas por exemplo (KLASING, 2007).

A associação dos dados da série branca com os da série vermelha constitui-se em importante ferramenta na averiguação do estado de saúde da ave. No entanto, apenas recentemente o perfil hematológico de aves começou a receber maior atenção por parte dos pesquisadores. Dados sobre a série eritrocítica [contagem global de hemácias (RBC), dosagem de hemoglobina (HGB), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hematócrito (HCT) e volume corpuscular médio (VCM)] fornecem informações sobre o estado nutricional e respiratório (NAKAGE, 2007), sendo que os índices de Wintrobe (WINTROBE, 1934) que são HCM, CHCM e VCM são parâmetros que indicam a presença de anemia e avaliam a qualidade das hemácias. A restrição alimentar prolongada pode promover diminuições no número e no tamanho das hemácias (MAXWELL et al., 1990a), o que poderia dificultar a oxigenação celular e interferir negativamente sobre o funcionamento pleno de vários sistemas orgânicos, dentre eles o sistema imune.

O funcionamento adequado do sistema imune é imprescindível para as matrizes responderem adequadamente aos estímulos vacinais e se sobressaírem diante de patógenos. No entanto, o triunfo das aves diante de patógenos pode ser comprometido por alterações hematológicas e bioquímicas decorrentes do longo período de jejum entre sua eclosão e seu alojamento. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi de avaliar os efeitos da vacina, contra a bronquite infecciosa das galinhas (BIG), e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão, durante 0, 12, 24, 48 ou 72 horas, sobre as características hematológicas e as concentrações de proteína total, albumina e

globulina séricas e glicose plasmática, durante os primeiros 21 dias de vida de matrizes de corte.

## Materiais e Métodos

### Período Pré-experimental

A incubação foi realizada de acordo com os procedimentos de rotina do Incubatório de Ajapi da Empresa Perdigão Agroindustrial S/A, onde foram utilizados ovos incubáveis ( $63,69 \pm 0,81\text{g}$ ) da linhagem Cobb 500 Slow<sup>®</sup> provenientes de um mesmo lote de avós com 37 semanas de vida. Os ovos foram estocados a 18°C durante 10 dias. Antes da incubação, os ovos foram pré-aquecidos durante 8 horas em uma sala com temperatura ambiente de 30°C e umidade relativa entre 60 e 65%. A incubação foi realizada em uma mesma incubadora<sup>2</sup> com temperatura de 37,5 °C e umidade relativa de 60 - 65 %. Com 240 horas de incubação foi realizada a ovoscopia para descartar os ovos não viáveis. Com 456 horas de incubação (19 dias) os ovos foram transferidos para os nascedouros<sup>2</sup>, que foram mantidos com temperatura interna e umidade relativa de 36,5 °C e 70 %, respectivamente. Durante a transferência dos ovos procedeu-se a vacinação dos pintainhos via “in ovo” contra a doença de Marek. Visando uma maior uniformidade no tempo de incubação, e baseando-se na janela de eclosão obtida nesse incubatório, foram utilizadas no experimento somente as pintainhas nascidas entre 492 e 500 horas de incubação. Para isso, às 492 horas de incubação os nascedouros foram abertos e os pintainhos nascidos foram retirados das bandejas de nascimento e remanejados, estas aves não foram utilizadas para o experimento. Às 500 horas de incubação 2000 pintainhos nascidos no intervalo (492 a 500 horas) foram remanejados para bandejas vazias e foram imediatamente direcionadas para a sexagem pela cloaca, ao final da sexagem, que durou cerca de 3 horas, 750 pintainhas foram transportadas imediatamente até as dependências do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP/Jaboticabal, situada a uma distância de 180 km do incubatório, onde o experimento foi conduzido. O tempo de transporte das aves do incubatório à Faculdade foi de 3 horas. Desta forma, as aves nascidas logo após as 492 horas foram submetidas a um período máximo de 14 horas de jejum até o início dos tratamentos (tempo zero) e a diferença máxima em

---

<sup>2</sup> Incubadora CASP Mg 62 “i”<sup>®</sup>

horas entre os nascimentos foi de 8 horas. Assim, o tempo zero correspondeu ao momento usual de saída das aves do nascedouro.

## Período experimental

### Delineamento

Imediatamente após a chegada ao Setor de Avicultura, as aves foram pesadas e separadas em faixas de peso de modo que os pesos médios das parcelas foram similares. Distribuíram-se as aves em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2X5, sendo os fatores a vacinação (vacinado ou não vacinado) e o período de jejum hídrico-alimentar (0, 12, 24, 48 ou 72 horas) totalizando 10 tratamentos com quatro repetições de 18 aves cada. As parcelas foram distribuídas em boxes (no piso) em duas câmaras climatizadas, separando as parcelas vacinadas das não vacinadas. As aves foram criadas durante as primeiras 3 semanas de vida. A ração fornecida foi à base de milho e farelo de soja, formulada de acordo às exigências nutricionais da linhagem (NRC, 1994). O fornecimento de ração e água iniciou-se após o período de jejum, dependendo do tratamento e o programa alimentar utilizado foi ad libitum. As câmaras foram mantidas na temperatura termoneutra de acordo à idade das aves. O programa de luz adotado foi de 23 horas de luz na primeira semana, 20 horas na segunda e 16 horas na terceira. A intensidade de luz foi de 25 lux durante todo o programa de luz.

### Vacinação

A vacinação contra a BIG foi realizada no momento do alojamento, via óculo-nasal (1 gota/via) com vacina “viva” liofilizada, contendo um total de  $10^4$  DIE<sub>50</sub>/dose da amostra MASSACHUSETTS (H-120) do vírus da bronquite infecciosa das galinhas, da Biovet. As aves vacinadas foram mantidas em câmara distinta das aves não vacinadas. Com o intuito de evitar a propagação do vírus das aves vacinadas para as não vacinadas, o manejo de cada uma das câmaras foi procedido por pessoas diferentes.

---

<sup>2</sup> Nascedouro CASP Ug 21 “e”<sup>®</sup>

### Variáveis avaliadas

Ao final do 1º, 3º, 5º, 7º, 14º e 21º dia de vida, uma ave por unidade experimental representando o peso médio da parcela foi selecionada para as análises hematológicas e a concentração de proteína total, albumina, globulina séricas e glicose sanguínea.

### Coletas de sangue

A coleta de 4 mL de sangue foi procedida através da via intracardíaca, destes adicionou-se 1,5 mL em microtubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 10%, na proporção de 0,01 mL para 1,0 mL de sangue os quais foram especificamente etiquetados para a realização do hemograma completo. Ademais, amostras de 0,5 mL de sangue foram adicionadas em microtubos contendo uma gota de EDTA (EDTA 6g/dL e KF 12g/dL) etiquetados para análise de glicose. Mais 2 mL de sangue foram coletados em microtubos e posteriormente centrifugados. O soro obtido foi transferido utilizando-se micropipeta, para dois novos microtubos devidamente identificados, e congelados a -20°C para posterior avaliação de proteína total e albumina.

### Análises hematológicas e bioquímicas

As amostras de 0,5 mL de sangue foram centrifugadas por 15 minutos utilizando-se uma microcentrífuga da marca costar. O plasma foi retirado com micropipeta e armazenado em microtubos para quantificação de glicose através do Kit Glicose PAP liquiform (Labtest, 500mL, cat. 84, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG). Foram utilizadas duas leituras por ave.

A partir de 1,5 mL de sangue total com EDTA procedeu-se a maior parte das análises. A determinação do hematócrito foi realizada através do método do microhematócrito, utilizando-se tubo capilar centrifugado a 1200g por 5 minutos, sendo o resultado expresso em porcentagem.

A dosagem da concentração de hemoglobina (HGB) foi efetuada a partir do sangue total utilizando-se kits comerciais (Labtest). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (LABQUEST), com luz de comprimento de onda apropriado.



Para as contagens de hemácias e de leucócitos utilizou-se uma amostra de sangue e a solução de Natt e Herrick (1952), em uma diluição 1:100, realizando-se a contagem (n/ $\mu$ L de sangue) em hemocítmetro de Neubauer. A partir dos dados obtidos no hemograma, foram calculados os seguintes índices hematimétricos de Wintrobe: hemoglobina corpuscular média (HCM), expressa em picogramas (pg); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), expressa em g /dL; volume corpuscular médio (VCM), expresso em fentolitros (fL). Para a contagem diferencial de leucócitos foram preparados esfregaços sanguíneos, corados pelo método de Rosenfeld, de acordo com a técnica descrita por Lucas e Jamroz (1961). Esses procedimentos foram realizados em todas as amostras coletadas. A contagem leucocitária foi classificatória para linfócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos, calculando-se a proporção de cada tipo em 100 células contadas e multiplicando-se esta porcentagem pelo número total de leucócitos. A determinação da relação heterófilo/linfócito (H/L) foi efetuada conforme Gonzales et al., (2003).

A contagem de proteína total (método do Biureto), albumina (método do verde de bromocresol) foram realizadas mediante utilização de kits comerciais (Labtest) a partir do soro. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (LABQUEST), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste. A globulina foi obtida subtraindo-se a albumina da proteína total.

#### Análise estatística

Para atender as pressuposições da análise de variância avaliou-se a necessidade de se proceder transformações individuais, por meio do procedimento Guided Data Analysis do SAS (2002). Alguns dados das análises hematológicas necessitaram transformações. Em seguida procedeu-se a análise de variância pelo procedimento *GLM (General Linear Models)* do programa SAS<sup>®</sup> e em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados

### Hemograma

Os efeitos principais da vacina contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG) e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão sobre a contagem de eritrócitos (RBC), a taxa de hemoglobina (HGB) e o hematócrito (HCT) encontram-se na Tabela 01. Os desdobramentos das interações significativas ( $p > 0,05$ ) referente às variáveis abordadas na Tabela 01, encontram-se nas Tabelas 02 e 03.

Tabela 01. Contagem global de hemácias (RBC), dosagem de hemoglobina (HGB) e hematócrito (HCT), aos 3, 5, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
		RBC ( $10^6$ mL)				
Vacina	Não Vacinado	1,63	1,42	1,72	2,52 (0,38*)	2,51
	Vacinado	1,53	1,60	1,78	2,47 (0,37*)	2,45
Jejum (horas)	0	1,57 ab	1,39	1,76	2,75 (0,43*)	2,56
	12	1,46 b	1,30	1,81	2,51 (0,39*)	2,49
	24	1,53 ab	1,55	1,70	2,31 (0,36*)	2,33
	48	1,49 ab	1,68	1,80	2,59 (0,40*)	2,47
	72	1,85 a	1,66	1,68	2,28 (0,35*)	2,62
Probabilidade	Vacina (V)	0,2607	0,054	0,3835	0,7302	0,6946
	Jejum (J)	0,0489	0,0691	0,8868	0,3543	0,5736
	VXJ	0,6172	0,0739	0,8429	0,0324	0,7204
CV (%)		13,79	19,54	14,75	19,93	11,69
		HGB (g/dL)				
Vacina	Não Vacinado	12,74	12,11	13,21	14,48	15,66
	Vacinado	14,01	12,64	13,23	14,55	15,36
Jejum (horas)	0	11,35 b	11,75 ab	13,12	14,80	14,67
	12	12,34 b	11,42 b	14,05	15,45	16,36
	24	13,96 b	12,12 ab	13,72	14,90	14,55
	48	14,73 a	13,32 a	13,22	13,95	14,99
	72	14,66 a	13,55 a	12,00	13,70	16,33
Probabilidade	Vacina (V)	0,05	0,1905	0,9802	0,2805	0,5868
	Jejum (J)	0,0125	0,0034	0,2777	0,0036	0,0507
	VXJ	0,527	0,9704	0,1793	0,0081	0,8269
CV (%)		16,09	9,19	14,32	6,97	11,13
		HCT (%)				
Vacina	Não Vacinado	24,74	22,64	26,17	28,4 b	29,05
	Vacinado	23,89	23,89	25,10	30,00 a	28,5
Jejum (horas)	0	23,87	23,13	25,62	29,37	28,00
	12	22,37	23,63	27,12	29,00	29,62
	24	24,43	22,50	26,50	28,87	28,62
	48	25,37	24,75	25,13	29,49	28,50
	72	26,00	22,14	23,87	29,37	29,12
Probabilidade	Vacina (V)	0,3863	0,1442	0,1608	0,0432	0,437
	Jejum (J)	0,2406	0,2948	0,1421	0,9785	0,6426
	VXJ	0,7694	0,7691	0,4917	0,2789	0,6082
CV (%)		12,89	10,54	9,79	7,94	7,66

a-b: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Valores marcados com \* representam o valor das médias após a transformação  $\log_{10}$ .

A contagem global de hemácias (RBC) foi influenciada pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias de vida (Tabela 01), e houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre vacina e jejum aos 14 dias de vida (Tabela 02).

Aos 3 dias de vida, as aves mantidas em jejum apresentaram maior valor de RBC comparativamente às sujeitas a 12 horas de jejum.

Tabela 02. Desdobramento da interação significativa para o RBC, aos 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

RBC - Dia 14					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	2,47 (0,39) ab	2,62 (0,42) ab	2,13 (0,32) b	3,06 (0,48) Aa	2,30 (0,36) ab
<b>Vacinado</b>	3,03 (0,46)	2,43 (0,38)	2,51 (0,39)	2,13 (0,32) B	2,28 (0,36)

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Dentre as aves mantidas em jejum por 48 horas, matrizes vacinadas apresentaram menor valor de RBC que as não vacinadas. Dentre as aves não vacinadas, aves mantidas em jejum por 48 horas apresentaram maior valor de RBC que aquelas submetidas a 24 horas de jejum.

A dosagem de hemoglobina (HGB) foi influenciada ( $p < 0,05$ ) pelo jejum aos 3, 5 e 14 dias de vida (Tabela 01). Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre vacina e jejum no 14º dia de vida (Tabela 03).

Com 3 dias de vida, aves sujeitas a longos períodos de jejum após o alojamento (48 e 72 horas) apresentaram maior valor de HGB comparativamente às demais, já aos 5 dias de vida o valor de HGB nestas aves foi maior que o nas matrizes que jejuaram por 12 horas.

A vacina não exerceu influência sobre HGB, no entanto, aos 14 dias de vida, a interação (vacina x jejum) foi significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 03).

Tabela 03. Desdobramento da interação para a HGB, aos 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		HGB - Dia 14				
		Jejum (horas)				
		0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>		14,4	14,42 B	14,97	14,3	14,32 A
<b>Vacinado</b>		15,2 b	17,5 Aa	14,85 bc	13,62 bc	13,1 Bc

a-c: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Dentre as aves mantidas em jejum por 12 horas, aves vacinadas apresentaram maior valor de HGB que as não vacinadas, no entanto nas matrizes sujeitas a 72 horas de jejum a vacina exerceu o efeito oposto. Dentre as matrizes vacinadas, as alimentadas ao alojamento e as sujeitas a 12 horas de jejum, apresentaram maior valor de HGB que as alimentadas com atraso de 72 horas.

O hematócrito (HCT) foi influenciado pela vacina ( $p < 0,05$ ) nas aves com 14 dias (Tabela 01), quando as aves vacinadas apresentaram maior valor de HCT do que as não vacinadas.

Embora nenhuma influência do jejum sobre o valor de HCT tenha sido observada ( $p > 0,05$ ), ao se comparar o HCT (3 dias) das aves mantidas em jejum com aquelas alimentadas ao alojamento, nota-se que as primeiras apresentaram um valor de HCT 8,92 % superior. Na mesma idade, a comparação envolvendo matrizes mantidas em jejum durante 48 horas com as alimentadas ao alojamento, revelou elevação de 6,28% no valor de HCT por efeito do jejum.

Os efeitos principais da vacina contra a BIG e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão sobre o volume corpuscular médio (VCM), a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e a hemoglobina corpuscular média (HCM) encontram-se na Tabela 04. Os desdobramentos das interações significativas ( $p > 0,05$ ) referente às variáveis abordadas na Tabela 04, encontram-se nas Tabelas 05, 06 e 07.

Tabela 04. Volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), aos 3, 5, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
VCM (fL)						
Vacina	Não Vacinado	149,29	160,48	148,94	115,19 (2,04*)	113,86
	Vacinado	158,54	151,93	138,4	121,83 (2,08*)	116,83
Jejum (horas)	0	157,56	156,48	146,83	111,63 (2,04*)	109,86
	12	155,35	183,77	150,87	112,51 (2,05*)	119,93
	24	159,73	147,88	148,44	126,95 (2,1*)	118,12
	48	153,01	143,75	130,75	110,67 (2,02*)	115,92
	72	141,31	144,09	142,71	129,09 (2,11*)	108,92
Probabilidade	Vacina (V)	0,3723	0,2589	0,1617	0,1947	0,7271
	Jejum (J)	0,837	0,0009	0,4158	0,1416	0,5644
	VXJ	0,1248	0,0003	0,9813	0,0361	0,4785
CV (%)		19,18	11,58	15,32	3,38	12,07
CHCM (g/dL)						
Vacina	Não Vacinado	50,99	53,01	52,48	51,13	52,67
	Vacinado	56,27	53,18	52,82	49,11	53,95
Jejum (horas)	0	45,81	50,98 bc	51,26	50,55	52,58
	12	47,95	48,38 c	51,92	54,91	55,28
	24	57,15	54,25 b	55,33	51,82	50,78
	48	57,79	53,96 abc	54,50	47,91	52,68
	72	58,55	59,5 a	50,51	46,87	55,62
Probabilidade	Vacina (V)	0,0623	0,8386	0,6558	0,721	0,4184
	Jejum (J)	0,0023	0,0002	0,1833	0,0184	0,191
	VXJ	0,029	0,4253	0,0153	0,0278	0,7428
CV (%)		16,34	7,3	9,2	10,48	4,36
HCM ( $10^{-12}$ )						
Vacina	Não Vacinado	767,11	890,25	777,53	585,74 (2,76*)	612,80
	Vacinado	890,98	799,35	729,61	589,91 (2,75*)	623,48
Jejum (horas)	0	742,84	866,22	749,05	562,27 (2,74*)	575,00
	12	871,74	888,95	780,79	586,57 (2,76*)	662,93
	24	907,47	801,74	807,13	655,66 (2,81*)	597,89
	48	771,40	823,89	713,06	523,40 (2,71*)	611,38
	72	818,20	853,81	717,76	602,54 (2,78*)	663,55
Probabilidade	Vacina (V)	0,0639	0,0688	0,216	0,7483	0,4317
	Jejum (J)	0,4565	0,7803	0,4697	0,1055	0,1828
	VXJ	0,539	0,1319	0,2877	0,026	0,2096
CV (%)		22,12	17,97	15,91	2,34	13,41

a-c: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Valores marcados com \* representam o valor das médias após a transformação  $\log_{10}$ .

O volume corpuscular médio (VCM) foi influenciado pelo jejum ( $p < 0,05$ ), nas aves com 5 dias de vida (Tabela 04), e houve interação entre vacina e jejum ( $p > 0,05$ ), nas aves com 5 e 14 dias de vida (Tabela 05).

Tabela 05. Desdobramento da interação para o VCM, aos 5 e 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

VCM - Dia 5					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	131,54 b	186,46 a	161,5 Aab	140,02 ab	173,87 Aab
<b>Vacinado</b>	181,43 a	181,08 a	134,29 Bb	146,56 ab	114,32 Bb
VCM - Dia 14					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	111,4 (2,04) ab	100,11 (2,00) Bab	138,68 (2,14) a	94,61 (1,97) b	127,47 (2,1) a
<b>Vacinado</b>	111,85 (2,03)	121,81 (2,08) A	115,22 (2,06)	132,12 (2,12)	130,70 (2,11)

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 5 dias de vida, dentre as aves submetidas a 24 e a 72 horas de jejum, aves vacinadas apresentaram menor valor de VCM que as não vacinadas. Dentre as matrizes vacinadas, as alimentadas ao alojamento e as sujeitas a 12 horas de jejum apresentaram maior valor de VCM que as alimentadas com atraso de 24 e 72 horas. Dentre as aves não vacinadas, as aves alimentadas ao alojamento apresentaram menor valor de VCM que as alimentadas com atraso de 12 horas.

Aos 14 dias de vida, dentre as aves mantidas em jejum pós-eclosão por 12 horas, as vacinadas tiveram maior valor de VCM que as não vacinadas, e dentre as aves que não receberam vacina, as submetidas a 24 e 72 horas de jejum apresentaram maior valor de VCM que as sujeitas 48 horas de jejum.

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foi influenciada pelo jejum ( $p < 0,05$ ), nas aves com 3, 5 e 14 dias de vida (Tabela 04), e houve interação entre vacina e jejum ( $p > 0,05$ ), nas aves com 3, 7 e 14 dias de vida (Tabela 06). Aos 5 dias de vida, aves mantidas em jejum por 72 horas após o alojamento apresentaram maior valor de CHCM que as sujeitas a 0, 12 e 24 horas de jejum, sendo que o valor desta variável nas aves que jejuaram por 24 horas foi superior ao registrado nas aves

que jejuaram por 12 horas. A interação (vacina x jejum) significativa ( $p < 0,05$ ) nos dias 3, 7 e 14 dias de vida encontra-se na Tabela 06.

Tabela 06. Desdobramento da interação para a CHCM, aos 3, 7 e 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

<b>CHCM - Dia 3</b>					
Jejum (horas)					
	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>72</b>
<b>Não Vacinado</b>	50,03 ab	46,78 b	50,82 Bab	55,3 a	53,03 ab
<b>Vacinado</b>	40,18	50,26	65,62 A	66,87	59,07
<b>CHCM - Dia 7</b>					
Jejum (horas)					
	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>72</b>
<b>Não Vacinado</b>	51,63	48,94	51,84 B	58,97 A	51,01
<b>Vacinado</b>	50,92 b	54,9 ab	60,01 Aa	50,05 Bb	50,01 b
<b>CHCM - Dia 14</b>					
Jejum (horas)					
	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>72</b>
<b>Não Vacinado</b>	52,85	50,87	51,37	51,06	49,55
<b>Vacinado</b>	48,27 b	63,03 a	52,26 ab	44,78 b	44,21 b

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 3 dias de vida, dentre as aves mantidas em jejum por 24 horas, as vacinadas apresentaram maior valor de CHCM que as não vacinadas, e dentre as aves que não foram vacinadas, aquelas sujeitas a 48 horas de jejum pós-eclosão apresentaram maior valor de CHCM comparativamente as sujeitas a 12 horas de jejum.

Aos 7 dias de vida, dentre as matrizes sujeitas a 24 horas de jejum, aquelas vacinadas apresentaram maior valor de CHCM, já dentre as submetidas a 48 horas de jejum, a vacina exerceu o efeito oposto. Dentre as matrizes vacinadas, aquelas mantidas em jejum por 24 horas apresentaram maior valor de CHCM que as alimentadas ao alojamento e que aquelas submetidas aos dois maiores períodos de jejum.

Aos 14 dias de vida, dentre as aves vacinadas, as sujeitas a 12 horas de jejum após o alojamento apresentaram maior valor de CHCM que as submetidas a 0, 48 e 72 horas de jejum.



Houve interação entre vacina e jejum ( $p > 0,05$ ) para HCM aos 14 dias de vida (Tabela 03), seu desdobramento encontra-se na Tabela 07.

Tabela 07. Desdobramento da interação para a HCM, aos 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

HCM - Dia 14					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	587,27 (2,77) ab	513,61 (2,71) b	712,31 (2,85) a	469,2 (2,67) b	628,25 (2,8) a
<b>Vacinado</b>	537,29 (2,72)	659,55 (2,82)	599,01 (2,77)	595,69 (2,77)	576,83 (2,75)

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Dentre as aves que não foram vacinadas, aquelas submetidas a 24 e 72 horas de jejum apresentaram maior valor de HCM que aquelas sujeitas aos períodos de 12 e 48 horas de jejum.

#### Análises Bioquímicas

Os efeitos principais da vacina contra a BIG e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão sobre as concentrações de proteína plasmática total (CPP), de albumina plasmática (CAP), de globulina plasmática (CGLP) e de glicose plasmática (CGP) encontram-se na Tabela 08. Os desdobramentos das interações significativas ( $p < 0,05$ ) referente às variáveis abordadas na Tabela 08, encontram-se nas Tabelas 09, 10 e 11.

Tabela 08. Concentração de proteína total (CPP), concentração de albumina (CAP), globulina (CGLP) e glicose (CGP) plasmáticas, aos 3, 5, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não vacinadas, ao 1<sup>o</sup> dia de vida, contra o agente da BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
		CPP (g/dL)				
Vacina	Não Vacinado	3,10 a	2,42	2,51	2,77 a	2,73
	Vacinado	2,74 b	2,52	2,6	2,43 b	4,06
Jejum (horas)	0	2,75 ab	2,29	2,49	2,66	3,13
	12	2,44 b	2,63	2,58	2,75	3,40
	24	2,97 ab	2,50	2,38	2,69	3,80
	48	3,15 a	2,48	2,57	2,43	3,62
	72	3,29 a	2,45	2,81	2,51	3,00
Probabilidade	Vacina (V)	0,0192	0,3835	0,4887	0,0044	<,0001
	Jejum (J)	0,0064	0,3631	0,0597	0,3458	0,0564
	VXJ	0,2781	0,384	0,7898	0,3006	0,0014
CV (%)		16,68	13,35	11,06	14,11	17,34
		CAP (g/dL)				
Vacina	Não Vacinado	1,14 a	1,25	1,29	1,3	1,54 b
	Vacinado	1,01 b	1,22	1,32	1,2	2,06 a
Jejum (horas)	0	1,02 ab	1,21	1,33	1,14 b	1,57
	12	0,92 b	1,28	1,37	1,43 a	1,85
	24	1,13 ab	1,24	1,30	1,39 ab	1,89
	48	1,10 ab	1,30	1,27	1,14 b	1,95
	72	1,15 a	1,21	1,28	1,22 ab	1,65
Probabilidade	Vacina (V)	0,0162	0,5935	0,7178	0,1403	<,0001
	Jejum (J)	0,0218	0,74	0,3459	0,0356	0,0996
	VXJ	0,1752	0,1717	0,2091	0,6776	0,0697
CV (%)		14,96	13,84	7,78	16,74	17,84
		CGLP (g/dL)				
Vacina	Não Vacinado	1,94	1,2	1,24	1,46	1,18
	Vacinado	1,61	1,32	1,31	1,15	1,84
Jejum (horas)	0	1,48	1,08	1,15 b	1,52	1,67
	12	1,52	1,35	1,22 b	1,21	1,22
	24	1,83	1,25	1,10 b	1,30	1,63
	48	2,06	1,36	1,30 ab	1,28	1,68
	72	2,05	1,27	1,61 a	1,29	1,28
Probabilidade	Vacina (V)	0,0002	0,3519	0,3223	0,0682	0,0034
	Jejum (J)	<,0001	0,3526	0,0045	0,7742	0,2629
	VXJ	0,0033	0,5388	0,5244	0,6335	0,0028
CV (%)		13,01	25,14	20,95	39,00	84,6
		CGP (mg/dL)				
Vacina	Não Vacinado	364,93 (2,52*)	241,82	244,8	243,74	237,9
	Vacinado	276,75 (2,41*)	250,69	244,35	242,89	224,51
Jejum (horas)	0	364,07 (2,53*) ab	216,79	236,36	249,81	232,88
	12	257,89 (2,40*) ab	232,42	244,83	242,18	250,25
	24	318,97 (2,48*) ab	245,60	257,89	258,86	215,25
	48	456,62 (2,62*) a	271,51	248,44	222,03	236,63
	72	227,20 (2,34*) b	265,95	235,39	241,63	221,09
Probabilidade	Vacina (V)	0,0919	0,5159	0,9605	0,9417	0,1826
	Jejum (J)	0,0127	0,0872	0,4922	0,0207	0,2101
	VXJ	0,2225	0,722	0,0177	0,024	0,1137
CV (%)		6,14	17,33	11,49	8,39	13,41

a-b: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Valores marcados com \* representam o valor das médias após a transformação  $\log_{10}$ .

A concentração de proteína plasmática (CPP) foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ) nas aves com 3, 14 e 21 dias, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias de vida (Tabela 08). Houve interação significativa entre vacina e jejum para CPP aos 21 dias.

Nos dias 3 e 14, aves vacinadas apresentaram CPP menor que as não vacinadas. Aos 3 dias de vida, as aves submetidas a 48 e 72 horas de jejum apresentaram maior valor de CPP que as sujeitas a 12 horas de jejum.

O desdobramento da interação significativa (vacina x jejum) da variável CPP aos 21 dias encontra-se na Tabela 09.

Tabela 09. Desdobramento da interação para a CPP, aos 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

CPP - Dia 21					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	2,55 Bab	2,98 a	2,76 Bab	2,36 Bb	2,99 a
<b>Vacinado</b>	3,71 Aab	3,84 ab	4,84 Aa	4,9 Aa	3,00 b

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 21 dias de vida, dentre as aves sujeitas a 0, 24 e 48 horas de jejum, as vacinadas apresentaram maior valor de CPP que as não vacinadas. Para as aves vacinadas, as submetidas a 24 e 48 horas de jejum apresentaram maior CPP que as expostas a 72 horas de jejum pós-eclosão, enquanto dentre as aves não vacinadas, aquelas submetidas a 12 e a 72 horas de jejum apresentaram maior valor de CPP que as mantidas em jejum por 48 horas.

A concentração de albumina plasmática (CAP) foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ) nos dias 3 e 21, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3 e 14 (Tabela 08).

Aos 3 dias de vida, as matrizes vacinadas apresentaram menor valor de CAP que as não vacinadas, já aos 21 dias esta situação se inverteu.

Aos 3 dias de vida, aves mantidas em jejum apresentaram maior valor de CAP que as sujeitas a 12 horas de jejum pós-eclosão, já aos 14 dias matrizes sujeitas a 0 e

48 horas de jejum pós-eclosão apresentaram menor valor de CAP que as mantidas em jejum por 12 horas após o alojamento.

A concentração de globulina plasmática (CGLP) foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ) nos dias 3 e 21, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nos dias 3 e 7 (Tabela 08). Houve interação significativa entre vacina e jejum ( $p < 0,05$ ) para CGLP nos dias 3 e 21.

Aos 7 dias de vida, aves mantidas em jejum por 72 horas apresentaram maior CGLP que as sujeitas a 0, 12 e 24 horas de jejum.

O desdobramento da interação significativa (vacina x jejum) da variável CGLP nos dias 3 e 21 encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Desdobramento da interação para a CGLP, aos 3 e aos 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

CGLP - Dia 3					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	1,5 c	1,54 c	1,85 bc	2,35 Aab	2,55 Aa
<b>Vacinado</b>	1,45	1,49	1,80	1,76 B	1,52 B
CGLP - Dia 21					
	Jejum (horas)				
	0	12	24	48	72
<b>Não Vacinado</b>	1,23	1,35 A	1,28	0,91 B	1,33
<b>Vacinado</b>	2,11 ab	1,05 Bb	2,09 ab	2,57 Aa	1,2 ab

a-c: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 3 dias de vida, dentre as matrizes mantidas em jejum e alimentadas com atraso de 48 horas, as vacinadas apresentaram menor valor de CGLP, e dentre as aves que não receberam a vacina, o aumento do período de jejum elevou o valor de CGLP.

Aos 21 dias de vida, dentre as aves mantidas em jejum por 48 horas, as vacinadas apresentaram maior valor de CGLP que as não vacinadas, e nas sujeitas a 12 horas de jejum a vacina exerceu o efeito oposto. Nas aves vacinadas, aquelas submetidas a 48 horas de jejum pós-eclosão apresentaram maior valor de CGLP que as mantidas em jejum por 12 horas.

A concentração de glicose plasmática (CGP) foi influenciada pelo jejum ( $p < 0,05$ ) nas aves com 3 e 14 dias de vida (Tabela 08). Houve interação ( $p < 0,05$ ) entre a vacina e o jejum, nas aves com 7 e 14 dias de vida (Tabela 11).

Aos 3 dias de vida, aves mantidas em jejum apresentaram menor valor de CGP que as submetidas a 48 horas de jejum, a CGP das aves que permaneceram em jejum por 0, 12 e 24 horas não diferiu das demais.

O desdobramento da interação significativa (vacina x jejum) da variável CGP nos dias 7 e 14 encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Desdobramento da interação para a CGP, aos 7 e aos 14 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

<b>CGP - Dia 7</b>					
	Jejum (horas)				
	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>72</b>
<b>Não Vacinado</b>	213,86 Bb	235,53 ab	282,47 a	261,64 ab	230,53 ab
<b>Vacinado</b>	258,86 A	254,14	233,31	235,25	240,25
<b>CGP - Dia 14</b>					
	Jejum (horas)				
	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>48</b>	<b>72</b>
<b>Não Vacinado</b>	244,41ab	246,64 ab	279,41 Aa	209,6 b	230,25 Bb
<b>Vacinado</b>	253,86	236,27	238,3 B	231,36	253,03 A

a-b: Comparação entre períodos de jejum dentro dos grupos vacinado e não vacinado. A-B: Comparação entre vacinados e não vacinados, dentro de cada período de jejum. Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

Aos 7 dias de vida, dentre matrizes alimentadas ao alojamento, as vacinadas apresentaram maior valor de CGP que as não vacinadas. Na mesma idade, dentre as aves que não receberam a vacina, aquelas alimentadas ao alojamento apresentaram menor valor de CGP que as alimentadas com atraso de 24 horas.

Aos 14 dias de vida, dentre as aves alimentadas com atraso de 24 horas, matrizes vacinadas apresentaram menor CGP que as não vacinadas, a vacina exerceu o efeito oposto nas aves submetidas a 72 horas de jejum. Dentre as aves que não receberam a vacina, aquelas submetidas a 48 e 72 horas de jejum apresentaram menor CGP que as mantidas em jejum por 24 horas.

### Contagem Diferencial de Leucócitos

Os dados obtidos nas contagens relativas de basófilos, eosinófilos e monócitos, não foram submetidos à análise estatística pois não atenderam as suposições de normalidade dos erros e homogeneidade de variância.

Os efeitos da vacina contra a BIG e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão sobre a contagem total de leucócitos, as contagens relativas de heterófilos e de linfócitos e a relação heterófilo:linfócito (H/L) encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12. Contagem total de leucócitos, contagens percentuais de heterófilos e linfócitos, e relação H/L, aos 3, 5, 7, 14 e 21 dias de vida, de matrizes pesadas submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão, vacinadas ou não contra a BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
		Leucócitos (10 <sup>3</sup> /μL)				
Vacina	Não Vacinado	22,00	32,00	27,80 (4,39*)	24,00 (4,35*)	20,00
	Vacinado	20,00	40,00	34,70 (4,51*)	21,00 (4,3*)	23,00
Jejum (horas)	0	26,00 a	33,00	33,80 (4,48*)	23,00 (4,33*)	22,00
	12	21,00 ab	36,00	28,00 (4,43*)	24,00 (4,36*)	22,00
	24	16,00 b	44,00	29,50 (4,44*)	23,00 (4,35*)	22,00
	48	17,00 b	34,00	32,70 (4,46*)	25,00 (4,35*)	21,00
	72	22,00 ab	33,00	31,80 (4,46*)	17,00 (4,23*)	20,00
Probabilidade	Vacina (V)	0,1707	0,0632	0,058	0,2438	0,0607
	Jejum (J)	0,0019	0,3258	0,9897	0,2865	0,7709
	VXJ	0,8533	0,8135	0,4747	0,0877	0,5892
CV (%)		22,75	33,29	4,45	3,38	18,57
		Heterófilos (%)				
Vacina	Não Vacinado	61,50	54,90	30,15	52,75 b	43,15
	Vacinado	60,45	51,75	33,20	58,85 a	45,97
Jejum (horas)	0	64,62	48,12	29,50	59,87	44,52
	12	57,12	49,87	29,12	59,80	43,83
	24	56,62	50,87	29,00	53,87	44,22
	48	66,50	58,25	32,87	53,87	45,00
	72	60,00	59,50	37,87	51,50	45,23
Probabilidade	Vacina (V)	0,7328	0,2775	0,1835	0,0216	0,4585
	Jejum (J)	0,1779	0,0528	0,0795	0,1423	0,9993
	VXJ	0,1487	0,2707	0,6936	0,4320	0,9636
CV (%)		15,80	16,89	22,36	14,26	32,86
		Linfócitos (%)				
Vacina	Não Vacinado	34,05	40,95	63,60 a	42,50 a	49,83
	Vacinado	34,55	37,85	57,55 b	36,65 b	45,65
Jejum (horas)	0	31,00	45,50 a	63,50	37,12	49,02
	12	38,25	42,00 ab	63,37	34,37	47,92
	24	37,75	41,25 ab	64,87	40,75	47,85
	48	29,12	35,12 ab	58,00	42,12	46,73
	72	35,37	33,12 b	53,12	43,50	47,19
Probabilidade	Vacina (V)	0,8700	0,2295	0,0462	0,0271	0,2028
	Jejum (J)	0,2432	0,0238	0,0825	0,1592	0,9937
	VXJ	0,2027	0,2750	0,6731	0,3053	0,8148
CV (%)		27,920	20,280	15,180	20,110	26,300
		H/L				
Vacina	Não Vacinado	1,92	1,56	0,50	1,33	1,05
	Vacinado	2,00	1,41	0,64	1,53	1,20
Jejum (horas)	0	2,22	1,12 b	0,47	1,65	1,10
	12	1,89	1,27 ab	0,48	1,62	1,15
	24	1,82	1,29 ab	0,46	1,48	1,02
	48	2,40	1,80 ab	0,59	1,14	1,22
	72	1,88	1,94 a	0,84	1,22	1,16
Probabilidade	Vacina (V)	0,7536	0,4187	0,1308	0,1440	0,4091
	Jejum (J)	0,6854	0,0320	0,0781	0,0948	0,9660
	VXJ	0,1669	0,6712	0,8755	0,5935	0,9331
CV (%)		46,19	39,45	52,01	29,60	61,46

a-b: Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Valores marcados com \* representam o valor das médias após a transformação  $\log_{10}$ .

A contagem de leucócitos sofreu influência do jejum ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias de vida (Tabela 12), quando maior número de leucócitos foi observado nas aves alimentadas ao alojamento do que naquelas mantidas em jejum por 24 e por 48 horas (Tabela 12).

A Contagem de heterófilos foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ) aos 14 dias, quando as aves vacinadas apresentaram maior percentual de heterófilos que as não vacinadas (Tabela 12).

A contagem de linfócitos foi influenciada pela vacina ( $p < 0,05$ ), nos dias 7 e 14, e pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos 5 dias (Tabela 12). A vacina contra a BIG reduziu o percentual de linfócitos, tanto aos 7, como aos 14 dias. Matrizes sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão apresentaram menor percentual de linfócitos aos 5 dias que as alimentadas ao alojamento.

A relação heterófilo/linfócito (H/L) foi influenciada pelo jejum ( $p < 0,05$ ) aos dias 5 (Tabela 12), quando a relação H/L nas aves sujeitas a 72 horas de jejum pós-eclosão superou o valor de H/L das aves alimentadas ao alojamento.



## Discussão

### Hemograma

A vacina contra a BIG não exerceu nenhum efeito sobre o hemograma de matrizes, com exceção de um ligeiro aumento no HCT aos 14 dias. Ainda, os resultados obtidos no desdobramento das interações significativas, não permitem concluir que a vacina tenha afetado de forma direta o tamanho, a forma e a concentração de hemoglobina dos eritrócitos. Contudo, é provável que o discreto aumento no valor de HCT das aves vacinadas aos 14 dias tenha sido indireto, ou seja, em resposta a uma queda no volume plasmático. Uma hipótese que justificaria o achado poderia ser que, sendo o VBIG um coronavírus, que pode se replicar e comprometer órgãos do trato gastrointestinal (VILLARREAL et al., 2007), o aumento do HCT aos 14 dias poderia ser resposta à desidratação. De acordo com Guy (1998), o coronavírus causador da enterite dos perus, ao se replicar no intestino das aves pode levar a desidratação. Todavia, não se pode fazer conclusões sobre esta hipótese, pois a metodologia empregada neste estudo não envolveu o isolamento viral.

Embora tenha sido relatado que diante de uma primeira exposição a uma bactéria ou a um vírus o custo energético para o desenvolvimento da imunidade adaptativa é alto (KLASING, 2007), o custo envolvido na resposta ao vírus vacinal empregado neste estudo não foi suficiente para afetar a formação das hemácias. De acordo com Cook (1999), a geração da imunidade específica através da vacinação é útil, no entanto, os gastos com a geração da resposta imune podem comprometer a produtividade. De fato, no presente experimento ficou comprovado que o custo envolvido na geração da resposta imune promoveu queda no GP das matrizes ao sétimo dia de vida. Contudo, a série vermelha do sangue de matrizes mostrou ser uma variável bastante preservada em condições de incremento de gasto energético com a geração da resposta imune.

O efeito do jejum sobre o hemograma de matrizes apresentou resultados semelhantes a algumas pesquisas envolvendo frangos de corte, aves de postura comercial e matrizes de corte, no entanto, existem alguns pontos característicos de

cada trabalho a serem considerados (MAXWELL et al., 1990<sup>a</sup>; HOCKING; MAXWELL; MITCHELL, 1994; NAKAGE, 2007).

Dentre os dados referentes à série vermelha, os aumentos de RBC e de HGB provavelmente sejam decorrentes de queda no volume plasmático em resposta ao jejum hídrico-alimentar. Após a ingestão de água e ração os valores de RBC e de HGB das aves expostas ao jejum prolongado retornaram aos valores apresentados pelo grupo controle. Todavia, não se deve desconsiderar que a redução no volume plasmático em resposta ao jejum de água e ração pode levar ao aumento da viscosidade sangüínea, podendo gerar *déficit* respiratório e metabólico em função do *déficit* cardíaco e, portanto, circulatório nas matrizes mantidas em jejum por prolongados períodos de jejum (ROSÁRIO et al., 2004).

Os resultados ora obtidos em matrizes devem ser explicados pela queda no volume plasmático, pois de acordo com a literatura uma alteração primária na contagem, forma e concentração de hemoglobina de eritrócitos ocorre após um período crônico de deficiência nutricional.

De fato, Maxwell et al. (1990a), ao comparar pintainhos de corte e de postura comercial, alimentados ad libitum, com aqueles que receberam dieta restrita entre 4<sup>a</sup> a 20<sup>a</sup> semana de vida, verificaram diminuição de HGB e de HCT, e aumento de RBC nas aves submetidas à restrição. Os autores atribuíram tal resultado a uma resposta compensatória da medula óssea frente à redução no tamanho e na taxa de hemoglobina nas hemácias das aves restritas. No entanto, em outro experimento, apesar de ter ocorrido redução na taxa de hemoglobina, não houve alteração no HCT, na contagem e na forma das hemácias de matrizes de corte criadas em regime restrito da 20<sup>a</sup> a 51<sup>a</sup> semana (HOCKING; MAXWELL; MITCHELL, 1994).

Como os dados da série vermelha não foram alterados diretamente pelo jejum, a justificativa para as alterações encontradas deve recair sobre uma alteração no volume plasmático. Neste sentido, os deste estudo corroboram em parte com os achados de Nakage (2007), a qual encontrou elevação de HGB e de HCT após 24 horas de jejum, bem como elevação de RBC ao término de 48 horas de jejum pós-eclosão.

Apesar de no presente experimento ter ocorrido elevação de 6,28% e 8,92% no HCT das aves sujeitas a 48 e a 72 horas de jejum, respectivamente, ao contrário do

estudo de Nakage (2007), não houve diferença estatística entre matrizes mantidas em jejum e aquelas alimentadas ao alojamento. Ainda, ao contrário do presente estudo, 3 dias após a alimentação, pintainhos de corte mantidos em jejum por 24 e 48 horas apresentaram menores valores de RBC, de HCT e de HGB que os alimentados ao alojamento (NAKAGE, 2007). De acordo com a autora, durante o jejum, o líquido extracelular atuou como fonte hídrica ao organismo (HOUPY, 1996), enquanto, ao término do jejum, houve uma ingestão compensatória de água, o que promoveu a diluição dos eritrócitos neste compartimento. Possivelmente tal divergência deve estar relacionada a diferenças no equilíbrio hídrico entre as linhagens.

Provavelmente a elevação de CHCM encontrada aos 3 e aos 5 dias em resposta ao jejum prolongado neste trabalho, também esteja relacionada à queda no volume plasmático, pois nas idades em questão houve aumento de HGB e manutenção de HCT.

A redução no volume plasmático em resposta ao jejum também foi verificada por Knowles et al. (1995), os quais, aplicando um período de jejum hídrico-alimentar de 24 horas em frangos na idade de abate, encontraram aumento no valor de HCT. No entanto, como no presente trabalho, Pires, Malheiros e Boleli (2007) não encontraram efeito do jejum de 48 e de 72 horas sobre HCT em pintainhos de corte com 3 dias de vida. Possivelmente, parte das diferenças encontradas na literatura possa ser atribuída à idade em que se aplicou o jejum, pois há uma considerável superioridade na demanda metabólica por água em aves mais velhas (KNOWLES et al., 1995).

Apesar da elevação de RBC nas matrizes expostas ao jejum prolongado ter sido atribuída a uma queda no volume plasmático em decorrência de desidratação, alguns mecanismos fisiológicos compensatórios devem ter atuado para que a queda do volume plasmático fosse minimizada, e conseqüentemente, o equilíbrio homeostático fosse mantido nestas aves. Dentre estes mecanismos, destacam-se o desvio da água presente nos interstícios e no fluido celular para o líquido extracelular, bem como a redução na excreção de água (BRUNO; MACARI, 2002).

É importante considerar que redução do volume plasmático sob condições de jejum, ou seja, sem a possibilidade de ingestão de água, leva ao aumento da

viscosidade sangüínea, podendo gerar déficit respiratório e metabólico em função do déficit cardíaco e, portanto, circulatório (ROSÁRIO et al., 2004).

#### Análises Bioquímicas

O efeito da vacina contra a BIG sobre a concentração de proteína plasmática avaliada no presente trabalho, apresenta semelhança com os achados de algumas pesquisas (TALEBI; POURBAKSH; DOROSTKAR, 2005; SANTOS SCHMIDT, PAULILLO; LOCATELLI-DITTRICH, 2009). No atual estudo, matrizes vacinadas apresentaram valores reduzidos de CPP aos 3 e aos 14 dias, e de CAP aos 3 dias. Estes resultados estão de acordo com os achados de Talebi; Pourbakhsh; Dorostkar, (2005). No referido estudo, frangos de corte submetidos a um amplo programa vacinal contra os agentes da BIG, da doença de Newcastle e da doença de gumboro, apresentaram queda nos valores de CPP e de CAP durante todo período experimental. No estudo em questão, a vacina contra a BIG promoveu queda nos valores de CPP e de CAP ao final da primeira semana de vida. Ressalta-se que este último efeito foi promovido exclusivamente pelo vírus vacinal da bronquite infecciosa, pois a vacina contra a BIG foi aplicada ao alojamento e nenhuma outra vacina foi aplicada durante a primeira semana de criação. De forma semelhante, Rivetz et al. (1977) encontrou redução na CPP e na CAP de aves inoculadas com cepa patogênica do vírus da doença de Newcastle.

Santos Schmidt, Paulillo e Locatelli-Dittrich (2009) constataram que o perfil bioquímico de faisões de coleira é alterado em resposta à vacinação contra o agente causador da doença de Newcastle. No referido estudo, uma única dose de vacina aos 10 dias de vida não promoveu nenhuma alteração nos teores séricos das proteínas analisadas. No entanto, duas semanas após a segunda vacinação (38 dias), houve elevação na CPP, na CAP e na CGLP (52 dias). No mesmo estudo, aos 80 dias de vida, nenhuma diferença foi observada entre aves vacinadas e não vacinadas. Os autores atribuíram a referida elevação à produção das proteínas de fase aguda da inflamação, de maneira semelhante à descrita por Lumeij (2008), uma vez que o estímulo antigênico crônico leva a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B, células plasmáticas ou ambos (CAMPBEL, 2004).

De maneira semelhante à descrita por Lumeij (2008), a produção de proteínas de fase aguda da inflamação em resposta à vacinação contra a BIG poderia justificar as elevações de CPP e de CAP do presente estudo, o que explicaria a recuperação destas duas variáveis nas matrizes vacinadas a partir do 3º dia. Todavia, a queda expressiva na CGLP das aves vacinadas aos 14 dias poderia responder pela queda na CPP.

Entretanto, a elevação de CPP e de CGLP, aos 21 dias de vida das matrizes do presente estudo foi influenciada pelo jejum, conforme nota-se no desdobramento da interação ( $p < 0,05$ ) entre vacina e jejum para as duas variáveis (Tabelas 09 e 10). Uma possível explicação para a queda na CPP das aves vacinadas sujeitas a 72 horas de jejum (Tabela 09) poderia ser que o jejum prolongado proporcionou redução na resposta imune (produção de proteínas de fase aguda). Neste sentido, embora aves mantidas em jejum por 72 horas não tenham apresentado redução estatística da CGLP em relação às matrizes vacinadas sujeitas a menores períodos de jejum (Tabela 10), nota-se que o jejum promoveu uma queda expressiva desta variável. Ainda, os resultados sugerem que o jejum de 48 horas pode ter um efeito imunomodulador sobre a resposta imune vacinal (Tabela 10), o qual deve ser o responsável pelo maior valor de CPP observado nas matrizes vacinadas sujeitas a 48 horas de jejum (Tabela 10).

A elevação na CGLP das matrizes sujeitas a 48 horas de jejum suporta o achado do Capítulo 4, onde o jejum pós-eclosão de 48 horas promoveu elevação aos 21 dias, na concentração de IgG contra a BIG na secreção lacrimal das aves vacinadas. De acordo com TORO et al. (1993), durante a resposta imune, os anticorpos do isotipo IgG, tanto podem ser produzidos localmente na mucosa do trato respiratório, como podem ser transferidos para este compartimento a partir do sangue, podendo até mesmo ser concentrados.

Também estão em consonância com os achados do Capítulo 4, os resultados de CGLP aos 3 dias de vida, onde se pode notar que a desidratação em resposta a 72 horas de jejum gerou o maior título de anticorpos nas matrizes não vacinadas. Ainda, de forma semelhante à ocorrida com a CGLP, o valor da relação A/P aos 3 dias das aves vacinadas não diferiu entre os diferentes períodos de jejum.

A análise dos resultados da Tabela 10 mostra que o vírus vacinal, ao entrar em contato com os anticorpos da ave, promove a queda do valor de CGLP. Esta queda foi

mais evidente nos grupos sujeitos aos dois maiores períodos de jejum, provavelmente devido à hemoconcentração em decorrência do jejum. De fato, de acordo com Mondal e Naqi (2001), quando vacinados ao 1º dia de vida com vacina viva atenuada contra a BIG, pintainhos de corte apresentam uma queda mais pronunciada no título de anticorpos maternos do que pintainhos não vacinados.

No tocante ao efeito da vacina sobre a CGP, embora, a queda nos níveis plasmáticos de glicose aos 3 dias das matrizes do presente estudo não tenha sido fundamentada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, esta queda não deve ser desprezada ( $p=0,0919$ ). Quando analisada em conjunto com a queda no GP de 7 dias, esta redução expressiva na CGP deve ser considerada. Conforme discutido no Capítulo 2, o gasto energético envolvido na resposta vacinal ocorre em dois níveis. Sendo que o primeiro baseia-se na energia despendida pela ave na geração de resposta imune diante da infecção pelo vírus vacinal. O segundo refere-se ao efeito indireto do vírus vacinal, que envolve a febre, o aumento do “turnover” protéico em todo organismo, a queda de apetite e uma elevação drástica na taxa de gliconeogênese hepática (KLASING, 1998).

Desta forma, a menor disponibilidade de glicose nas matrizes vacinadas deve envolver, tanto seu maior consumo em decorrência da resposta imune, como sua menor absorção, em resposta à queda na ingestão de alimento. Todavia, a grande capacidade das aves em preservar sua CGP impediu que maiores diferenças na glicose plasmática pudessem ser medidas.

Desta forma, nas demais idades avaliadas neste estudo, a vacina não exerceu efeito sobre a CGP. De fato, Talebi; Pourbakhsh; Dorostkar, (2005) não encontrou nenhuma alteração nos níveis de glicose plasmática em resposta a um programa vacinal contra o vírus da bronquite infecciosa, e contra os agentes das doenças de Newcastle e de Gumboro. No referido estudo, as coletas de sangue foram semanais e, ao contrário do presente estudo, não se mensurou o desempenho zootécnico das aves.

Conforme observado na tabela 11, o desdobramento da interação significativa mostra que a CGP aos 7 e aos 14 dias foi variável. Resultados semelhantes foram descritos para frangos desafiados com cepa patogênica do VBIG (BRONYA, 1969). O autor atribuiu tal resultado a fatores antagônicos, enquanto uma parte atuaria reduzindo

a CGP, a outra elevaria sua concentração. No referido estudo, a redução na CGP foi atribuída à redução na reabsorção tubular de glicose em decorrência da ação patogênica do vírus nos rins, e a uma menor absorção de glicose no trato intestinal em decorrência de queda no consumo. A elevação na CGP teria ocorrido em resposta à privação de alimento, desidratação, ou ao estresse. Como a presente pesquisa envolve um vírus vacinal pouco adaptado ao tecido renal da ave, tendo desta forma reduzida capacidade patogênica, parece mais provável que os resultados obtidos no presente trabalho, aos 7 e aos 14 dias, sejam uma resposta à interação entre o jejum e os efeitos indiretos do vírus vacinal.

Os resultados referentes ao efeito do jejum sobre a concentração de proteína plasmática deste estudo estão de acordo com algumas pesquisas envolvendo perus (AUGUSTINE, 1982) e frangos de corte (WARRIS; KESTIN; EDWARDS, 2002; NAKAGE, 2007), nas quais foi observado que logo após 48 horas de jejum as aves apresentam aumento da CPP. Os autores atribuíram o achado à redução do volume plasmático provocado pela desidratação das aves em resposta ao jejum hídrico-alimentar.

Nas matrizes sujeitas aos maiores períodos de jejum, a CAP e a CGLP seguiram o mesmo comportamento da CPP, o que também pode ser atribuído à queda no volume plasmático, pois o aumento de albumina em aves fora de postura é patognomônico de desidratação (KENDAL, 2006). De acordo com o autor, nesta circunstância aumentos da proteína total e da globulina plasmática poderão ser encontrados. Contudo, no presente experimento, o comportamento da CGLP foi bastante afetado pela vacina, o que tornou a compreensão destes efeitos mais laboriosa.

Os resultados deste trabalho, aparentemente, mostram que o jejum de 72 horas não é suficiente para reduzir a concentração de proteína plasmática. Caso houvesse influência direta do jejum sobre a CAP, seu valor seria reduzido, pois a taxa de síntese protéica no fígado de aves de crescimento rápido é muito sensível a alterações no estado nutricional. Quando pintainhos de corte foram privados de alimento 15<sup>o</sup> ao 17<sup>o</sup> dia, sua síntese de proteína hepática foi reduzida, principalmente por redução na capacidade de síntese protéica ribossomal, tal redução traduziu-se em menores valores de albumina plasmática e proteína total (YAMAN; KITA; OKUMURA, 2002). Quando

submetidos a meses de jejum, pingüins imperador podem intensificar o processo de catabolismo protéico para a geração de energia, o que implica no aumento dos níveis plasmáticos de ácido úrico e uréia, no entanto, tal alteração não impede a diminuição dos níveis de proteína plasmática, especialmente de albumina (GROSCOLAS; ROBIN, 2001).

Por outro lado, é possível que a elevação na concentração de proteína plasmática (CPP e CAP) nas matrizes sujeitas ao jejum prolongado não seja apenas uma resposta à desidratação. Neste sentido, Pires, Malheiros e Boleli (2007) atribuíram o aumento no valor de CPP à elevação na degradação protéica em resposta ao jejum, através da qual, o organismo produz energia para a manutenção das funções fisiológicas orgânicas e para a geração de água metabólica (KANTANBAF et al., 1988). De fato, conforme discutido no capítulo anterior, os dados de crescimento alométrico das vísceras gastrintestinais indicam que possivelmente a degradação protéica possa ter ocorrido nas matrizes submetidas aos maiores períodos de jejum.

Apesar dos relatos citados de que pode haver catabolismo protéico em aves, esta situação parece ocorrer apenas em situações de jejum prolongado, quando as reservas hepáticas de glicogênio são esgotadas, e passa haver maior gliconeogênese a partir de aminoácidos e do glicerol no fígado. Caso esta fase seja extensa, pode ocorrer hipoglicemia, a qual se não corrigida pode levar à mortalidade (DONALDSON, et al., 1992; GANONG, 1995; CAMPBELL, 2004).

No estudo atual, a concentração de glicose das matrizes sujeitas ao maior período de jejum apresentou-se reduzida aos 3 dias de vida, provavelmente devido ao esgotamento das reservas hepáticas de glicogênio associado ao esgotamento da gema. Dois dias após a alimentação, as matrizes sujeitas 72 horas de jejum deste estudo apresentaram recuperação na concentração de proteína plasmática, o que é condizente com achados em camundongos (YOSHIZAWA et al., 1995). Na pesquisa mencionada, uma hora após o término do jejum, camundongos apresentaram aumento agudo na síntese de proteína esquelética e hepática, sugerindo rápida recuperação.

A diferença na CGP, entre as aves mantidas em jejum por 48 e 72 horas aos 3 dias de vida, aparentemente é decorrente de dois processos. Primeiramente, devido à elevação na a glicose plasmática em decorrência da alimentação (aves sujeitas a 48



horas de jejum). De fato, segundo Rodriguez, Tortosa e Villafuerte (2005), ao término do jejum, há intensa ingestão de ração e água e através do sistema de controle da CGP exercido pelo balanço insulina e glucagon as células usam menos glicose acarretando aumento da mesma no plasma. Secundariamente, as aves que permaneceram em jejum durante três dias, tiveram redução na CGP, o que foi observado em vários estudos (RODRIGUEZ; TORTOSA; VILLAFUERTE, 2005; NAKAGE, 2007). Todavia, as aves mantidas em jejum não diferiram das alimentadas até 24 horas após o alojamento através da atividade glicostática do fígado, da utilização das reservas lipoproteicas do saco vitelínico, bem como através da gliconeogênese a partir da degradação da proteína muscular e das reservas de lipídio.

A importância da degradação da proteína muscular nas matrizes que jejuaram por 72 horas deve ser considerada na manutenção da glicemia, pois nestas circunstâncias, o glicogênio hepático e a gema não devem fornecer toda energia requerida pela ave. O glicogênio presente no fígado e nos rins atende às demandas corporais imediatas (algumas horas), pois seus estoques são comparativamente pequenos com relação ao total de energia requerida pelos animais em situações de jejum prolongado (VIEIRA, 2002). O longo período de jejum enfrentado pelas matrizes, proporcionou uma menor reabsorção de gema ao final de 72 horas de jejum (Capítulo 2), e de acordo com Pinchasov e Noy (1993) a energia fornecida pela gema não é suficiente para suprir as necessidades energéticas, tanto de pintainhos de corte, como de perus neonatos.

#### Contagem Diferencial de Leucócitos

A maior parte dos estudos envolvendo a vacinação contra a BIG está centrada na imunidade humoral, em contrapartida, pesquisas sobre os papéis da imunidade mediada por células e da imunidade inata na defesa contra o VBIG são limitadas (DHINAKAR RAJ; JONES, 1997). Contudo, ficou comprovado que a imunidade mediada por células têm um papel crucial na depuração do vírus em fases iniciais da infecção pelo VBIG, especialmente aquela relacionada à atividade dos linfócitos T CD8 (DHINAKAR RAJ; JONES, 1997).

Apesar do presente estudo não ter lançado mão de metodologias mais específicas para aferir a imunidade celular, como a técnica dos anticorpos monoclonais anti-CD4 e anti-CD8, e de não ter utilizado metodologias que permitissem avaliar a presença do vírus e de células de defesa nos locais de replicação viral, como a imunofluorescência indireta, isolamento viral, e histopatologia, os resultados obtidos na contagem diferencial de leucócitos da presente pesquisa, até certo ponto, são condizentes com a literatura. Neste sentido, é provável que a redução no percentual de linfócitos nas matrizes vacinadas aos 7 e aos 14 dias deste estudo, esteja relacionada à saída dos linfócitos da circulação sanguínea para participar da resposta imune junto aos locais de replicação do vírus.

Quando frangos de corte são vacinados com vacina viva atenuada (H120) contra a BIG, via óculo-nasal, o exame histopatológico da glândula harderiana revela uma massiva infiltração linfocítica, bem como a elevação do número de células plasmáticas no interior da glândula (TORO et al., 1996). Tais alterações estão presentes deste o 7º até o 17º dia pós-vacinação. De acordo com MONTGOMERY et al. (1994), as principais alterações histológicas após a vacinação com o vírus atenuado da bronquite infecciosa das galinhas (BIG), via óculo-nasal, foi o aumento do número de linfócitos na mucosa nasal, nas pálpebras, na glândula lacrimal e na glândula harderiana. Apesar dos estudos citados, também terem demonstrado a presença de heterófilos nos compartimentos locais discutidos, é provável que a saída de linfócitos da corrente sanguínea em resposta à vacinação supere a saída de heterófilos, especialmente após a primeira semana da vacinação. Esta situação justificaria o aumento de heterófilos no sangue circulante das aves vacinadas aos 14 dias.

Decorridos 21 dias do momento da vacinação, possivelmente a ação do vírus vacinal junto ao tecido linfóide associado à cabeça das matrizes foi contida pelo sistema imune das matrizes, o que justifica a ausência de diferença estatística na contagem diferencial de leucócitos entre matrizes vacinadas e não vacinadas na referida idade.

Os resultados obtidos neste trabalho, quanto à influência do jejum sobre a contagem diferencial de leucócitos de matrizes de corte, apresentam semelhança com os achados de pesquisas envolvendo outras linhagens de galinhas (MAXWELL et al., 1990a; MAXWELL et al., 1990b; NAKAGE, 2007; PIRES; MALHEIROS; BOLELI,

2007), e mesmo outras espécies aviárias (MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992).

Foi relatado que a restrição alimentar, por ser um fator estressante para as aves, não só pode reduzir a contagem total de células brancas (MAXWELL et al., 1990b), como pode diminuir os percentuais linfócitos (MAXWELL et al., 1990b), ao mesmo tempo, que pode elevar os percentuais de heterófilos (MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992) e a relação H/L (MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992).

O jejum pós-eclosão prolongado, por ser um fator estressante para as aves, também pode produzir os mesmos efeitos que a restrição alimentar sobre a contagem diferencial de leucócitos (NAKAGE, 2007; PIRES; MALHEIROS; BOLELI, 2007). Neste sentido, a maior parte das alterações encontradas na série branca das matrizes deste estudo em resposta ao jejum pós-eclosão está em harmonia com os estudos relatados, por exemplo, a redução na contagem total de leucócitos aos 3 dias, em resposta a 24 ou 48 horas de jejum pós-eclosão, e a elevação de H/L aos 5 dias nas matrizes sujeitas ao maior período de jejum pós-eclosão.

Entretanto, neste estudo não foi possível observar nenhuma alteração no percentual de heterófilos. Seria de se esperar que o estresse gerado nas matrizes sujeitas a 72 horas de jejum promovesse um aumento no percentual de heterófilos. Glick (1967) obteve elevação na contagem de heterófilos em aves após administração de ACTH, sugerindo resultados semelhantes em aves expostas ao estresse do jejum. Pires, Malheiros e Boleli (2007) encontraram elevação na contagem de heterófilos em pintainhos de corte em resposta ao jejum de 24, 48 e 72 horas. Resultados semelhantes foram relatados por em aves sujeitas à restrição alimentar (MAXWELL et al., 1990a; MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992), enquanto da mesma forma que na presente pesquisa, outros pesquisadores não encontraram nenhuma alteração (MAXWELL et al., 1990b; MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992). Nakage (2007) encontrou redução na porcentagem de heterófilos aos 4 dias, em frangos expostos a 48 horas de jejum hídrico-alimentar.

Apesar de no presente trabalho os períodos de 48 e de 72 horas de jejum pós-eclosão terem reduzido a contagem de células brancas aos 3 dias, na mesma idade, o maior período de jejum empregado não promoveu o mesmo efeito. Deve-se salientar

que longos períodos de jejum pós-eclosão podem reduzir o volume plasmático, o que pode resultar no aumento da concentração dos leucócitos no sangue circulante. Esta situação pode justificar o valor leucócitos nas matrizes sujeitas a 72 horas de jejum não ter diferido daquelas alimentadas anteriormente.

Apesar dos resultados contrastantes, quanto à influência do jejum sobre a contagem diferencial de leucócitos, e de ser bem provável que todas as populações de leucócitos sejam controladas pelo eixo hipotálamo-hipófise-pituitária (GROSS; SIEGEL, 1986), ainda não há um consenso sobre o reflexo do jejum sobre cada população de leucócito circulante. Parece bem provável que, parte das diferenças encontradas deve ser atribuída à precisão de cada pesquisador envolvido na contagem diferencial. Neste sentido, o achado mais comum entre os estudos citados foi a elevação de H/L em resposta à restrição, o que possivelmente deve ser consequência destes dois glóbulos constituírem-se nos de maior número e de mais fácil identificação no esfregaço corado (MAXWELL; HOCKING; ROBERTSON, 1992). Devem contribuir para as discrepâncias existentes na literatura o prazo entre o início da restrição (jejum) e a coleta de sangue e a opção pela utilização dos valores percentuais ou dos totais de heterófilos para a análise estatística.

Frente ao exposto, embora os resultados, do efeito do jejum sobre a série branca de matrizes apresentem alguns desvios em relação à literatura, deve ficar patente que o jejum pós-eclosão de 72 horas leva as matrizes ao estresse. Esta afirmação é fundamentada na elevação da relação H/L, a qual recentemente, tem sido considerada indicadora de estresse em frangos de corte (GROSS; SIEGEL; DUBOUSE, 1980; DAVIDSON; FLACK, 1981; GROSS; SIEGEL, 1983; GONZALES et al., 2003; THRALL et al., 2004).

## Conclusões

Uma única dose da vacina viva atenuada H120 contra a BIG, administrada via óculo-nasal ao primeiro dia, não exerce influência sobre os parâmetros hematológicos da série vermelha de matrizes, no entanto promove alteração na concentração de proteína plasmática e no percentual de leucócitos do sangue circulante. Os dados indicam uma resposta humoral ao estímulo vacinal e sugerem um efeito imunomodulador em resposta ao jejum de 48 horas.

O jejum hídrico-alimentar de 72 horas promove alterações nas séries vermelha e branca e na concentração das proteínas plasmáticas de matrizes e os resultados indicam que este período de jejum induz a desidratação e o estresse nas aves.

## Referências

- AL-MURRANI, W. K.; AL-RAWI, A. J.; AL-HADITHI, M. F.; AL-TIKRITI, B. Association between heterophil/lymphocyte ratio, a marker of resistance to stress, and some production and fitness traits in chickens. **British Poultry Science**, London, v.47, p.443–48, 2006.
- AUGUSTINE, P.C. Effect of feed and water deprivation on organ and blood characteristics of young turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v. 61, p. 796-799, 1982.
- BERRONG, S. L.; WASHBURN, K. W. Effects of genetic variation on total plasma protein, body weight gains, and body temperature responses to heat stress. **Poultry Science**, Champaign, v.77, p.379-385, 1998.
- BRONYA, C. H. Chemical pathology of nephrosis induced by an infectious bronchitis virus. **Avian diseases**, Kennett Square, v.14, p. 95-106, 1969.
- BRUNO, L. D. G.; MACARI, M. Ingestão de água: Mecanismos regulatórios. In: Macari, M.; FURLAN, R. L.; GOLZALES, E. editors. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP, 2002. p.201-206.
- CAMPBELL, T. W. Clinical chemistry of birds. In: THRALL, M. A. (Ed.). **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.479- 492, 2004.
- CASTEEL, E. T., WILSON, J. L.; BUHR, R. J.; SANDER, J. E. The influence of extended posthatch holding time and placement density on broiler performance. **Poultry Science**, Champaign, v.73, p.1679–1684, 1994.
- COOK, J.K.A.; OTSUKI, K.; Da SILVA MARTINS, N.R.; ELLIS, M.M.; HUGGIS, M.B. The secretory antibody response in inbred lines of chickens to avian infectious bronchitis virus infectious. **Avian Pathology**, v.21, p.681-92, 1992.
- DAVIDSON, T. F.; FLACK, I. H. Changes in the peripheral blood leucocyte populations following and injection of corticotropin in the immature chicken. **Research in Veterinary Science**, London, v.30, p.79-82, 1981.
- DHINAKAR RAJ, G.; JONES, R. C. Infectious bronchitis virus: Immunopathogenesis of infection in the chicken. **Avian Pathology**, v.26, p.677-706, 1997.

- DONALDSON, W. E.; BREWER, C. E.; FERKET, P. R.; CHRISTENSEN, V. L. Posthatch carbohydrate feeding and subsequent performance of turkey poults. **Poultry Science**, Champaign, v.71, p.128-132, 1992.
- GLICK, B. Antibody and gland studies in corticosterone and ACTH-infected birds. **Journal of Immunology**, Weinheim, v.8, p. 1076-1084, 1967.
- GANONG, W.F. Balanço energético, metabolismo e nutrição. **Fisiologia médica**. 17<sup>a</sup> ed. Prentice Hall do Brasil, 1995. p. 199-225.
- GONZALES, E.; KONDO. N.; SALDANHA, E. S.; LODDY, M. M.; CAREGHI, C.; DECUYPERE, E. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. **Poultry Science**, Champaign, v.82, p.1250-1256, 2003.
- GROSCOLAS, R.; ROBIN, J. P. Long-term fasting and re-feeding in penguins. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.128, p. 645-655, 2001.
- GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S. Effects of initial and second periods of fasting on heterophil/lymphocyte ratios and body weight. **Avian diseases**, Kennett Square, v.30, p.345-346, 1986.
- GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.27, p.972-979, 1983.
- GROSS, W. B.; SIEGEL, H.S.; DUBOUSE, R.T. Some effects of feeding corticosterone to chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.59, p.516-522, 1980.
- GUY, J. S. Virus infections of the gastrointestinal tract in poultry. **Poultry Science**. Champaign, v.77, p.1166-1175, 1998.
- HAGER. J.E.; BEANE, W.L. Posthatch incubation time on early growth of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 62, p. 247-254, 1983.
- HALE, L. L.; PHARR, G. T.; BURGESS, S. C.; CORZO, A.; KIDD, M. T. Isoleucine needs of thirty to forty day old female chickens: Immunity. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.1979-125, 1985.
- HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Haematology and blood composition at two ambient temperatures in genetically fat and lean adult broiler breeders females fed ad libitum or restricted throughout life. **British Poultry Science**, London, v.35, p.799-807, 1994.

HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Relationships between the degree of food restriction and welfare indices in broiler breeder females. **British Poultry Science**, London, v.37, p. 263-78, 1996.

HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Welfare assessment of broiler breeder and layer females subjected to food restriction and limited access to water during rearing. **British Poultry Science**, London, v.34, p.443-58, 1993.

HOLT, P. S., Effects of induced molting on immune responses of hens. **British Poultry Science**, London, v.33, p.165–175, 1992.

HOUPT, T.R. Água e eletrólitos. In: SWENSON, M. J; REECE. W. O. editors. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11<sup>a</sup> Ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 1996. p.10-23.

HUMPHREY, B.D., STEPHENSEN, C.B.; CALVERT, C.C.; KLASING, K.C. Glucose and cationic amino acid transporter expression in growing chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 138, p. 515-525, 2004.

HUMPHREY, B.D., STEPHENSEN, C.B.; CALVERT, C.C.; KLASING, K.C. Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 143, p. 218-227, 2006.

KATANBAF, M. N.; JONES, D. E.; DUNNINGTON, E. A.; GROSS, W. B.; SIEGEL, P.B. Anatomical and physiological responses of early and late feathering broiler chickens to various feeding regimes. **Archives für Geflügelkund**, v.52, p. 119-126, 1988.

KENDAL, J. Diagnostic value of biochemistry. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. (Eds.) **Clinical avian medicine**. Florida: Spix publishing, 2006. 1057p.

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

KLASING, K. C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**, London, v.48, p.525–537, 2007.

KLASING, K. C. Influence of acute feed deprivation or excess feed intake on immunocompetence of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.67, p.626-634, 1988.



KNOWLES, T. G.; WAMNS, P. D.; BROWN, S. N.; EDWARDS, J. E.; MITCHELL, M. A. Response of broilers to deprivation of food and water for 24 hours. **British Veterinary Journal**, v.151, p. 197-202, 1995.

KUBIKOVA, L.; VYBOH P.; KOXTAI, L. Behavioural, endocrine and metabolic effects of food restriction in broiler breeder hens. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.70, p.247– 57, 2001.

LUCAS, A. M.; JAMROZ, C. **Atlas of Avian Hematology**, Agriculture Monograph 25, U. S. Department of agriculture, U. S. Government printing Office, Washington, D. C. 271pp.

LUMEIJ, J.T. Avian Clinical Biochemistry. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6<sup>a</sup> Ed. San Diego, Academic Press, 2008. P. 839-872.

MANNING, R. O.; WYATT, R. D.; FLETCHER, O. J. Effect of cold acclimation on the broiler chicks resistance to dietary aflatoxin. **Poultry Science**, Champaign, v.69, p.915-921, 1990.

MAXWELL, M.H.; HOCKING, P.M.; ROBERTSON, G.W. Diferential leucocyte responses to various degrees of food restriction in broilers, turkeys and ducks. **British Poultry Science**, v. 33, p. 177-187, 1992.

MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W.; ANDERSON, I. A.; DICK, L. A.; LYNCH, M. Hematology and histology of seven-week-old broilers after early food restriction **Research in Veterinary Science**, v.50 p.290-297, 1991.

MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G. W.; SPENCE, S.; MCCORQUODALE, C. C. Comparison of haematological values in restricted and *ad libitum* fed domestic fowls: red blood cell characteristics. **British Poultry Science**, v. 31, p. 399-405, 1990 a.

MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G. W.; SPENCE, S.; MCCORQUODALE, C. C. Comparison of haematological values in restricted and *ad libitum* fed domestic fowls: white blood cells and thrombocytes. **British Poultry Science**, v. 31, p. 407-413, 1990 b.

MONDAL, S. P.; NAQI, S. A. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 79, p. 31-40, 2001.

- MONTGOMERY, R. D.; MASLIN, W. R.; MAGEE, D. L.; BOYLE, C. R. Effects of modified-live infectious bronchitis virus vaccines on the head-associated lymphoid tissue (HALT). **Avian Diseases**, Kennett Square, v.38, p.847-856, 1994.
- NAKAGE, E. S. **Respostas fisiológicas de pintainhos submetidos a diferentes períodos de jejum: parâmetros hematológicos e intestinais**. 2007. 86 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement of poultry. 9.ed. Washington: University press, 1994.
- NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, Champaign, v.31, n4, p735-738, 1952.
- PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**, v. 34, p. 111-120, 1993.
- PIRES, D. L.; MALHEIROS, E. B.; BOLELI, I. C. Influence of sex, age, and fasting on blood parameters and body, bursa, spleen and yolk sac weights of broiler chicks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, p. 221-228, 2007.
- RIVIETZ, B.; BOGIN, E.; HORNSTEIN, K.; MERDINGER, M. Biochemical changes in fowl serum during infection with strains of Newcastle disease virus of differing virulence. Changes in serum proteins, uric acid, lipids and electrolytes. **Research in Veterinary Science**, London, v. 22, p. 285-291, 1977.
- RODRIGUEZ, P.; TORTOSA, F.S.; VILLAFUERTE, R. The effects of fasting and refeeding on biochemical parameters in the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 140 A, p. 157-164, 2005.
- ROSÁRIO, M.F.; DA SILVA, M. A. N.; COELHO, A. A. D.; SAVINO, V. J. M. Síndrome ascítica em frangos de corte: uma revisão sobre a fisiologia, avaliação e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1987-1996, 2004.
- SAMOUR, J. Diagnostic value of hematology. In: HARRISON, G. J.; LIGHTFOOT, T. L. (Eds.) **Clinical avian medicine**. Florida: Spix publishing, 2006. 1057p.
- SANTOS SCHMIDT, E. M. D.; PAULILLO, A. C.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; BELTRAME, O.; DENADAI, J. Serum protein profiles of juvenile ring-necked pheasants

- vaccinated or not against Newcastle disease. **International Journal of Poultry Science**, v.8, p.359-362, 2009.
- SARTORI, D.R.; MIGLIORINI, R. H.; VEIGA, J. A. S.; MOURA, J. L.; KETTELHUTI, C.; LINDER, C. Metabolic adaptations induced by long-term fasting in quails. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 111, p. 487-493, 1995.
- SAS INSTITUTE. **SAS® user's guide: statistics**. Cary: SAS Institute INC., Cary, 2002.
- SWENSON, M.J. Propriedades fisiológicas e constituintes químicos e celulares do sangue. In: SWENSON, M. J; REECE. W. O. editors. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara e Koogan, 1996. 853p.
- TALEBI, A.; POURBAKHS, S. A.; DOROSTKAR, K. Effects of vaccination routes against IB on performance and immune response of broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, p.795-798, 2005.
- THRALL, M.A. **Veterinary hematological and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518p.
- TORO, H.; GODOY, V.; LARENAS, J.; REYES, E; KALETA, E. F. Avian Infectious Bronchitis: Viral persistence in the harderian gland and histological changes after eyedrop vaccination. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.40, p.114-120, 1996.
- TORO, H.; LAVAUD, P.; VALLEJOS, P.; FERREIRA, A. Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.37, p.60-66, 1993.
- VIEIRA, S.L. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p.113-133.
- VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P. E.; CHACÓN, J. L. V.; ASSAYAG, M. S.; MAIORKA, P. C.; RAFFI, P.; SAIDENBERG, A. B. S.; JONES, R. C.; FERREIRA, A. J. P. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.51, p.900-904, 2007.
- WARRIS, P. D.; KESTIN, S. C.; EDWARDS, J. E. Response of newly hatched chicks to inanition. **Veterinary Records**, v. 130, p. 49-53, 1992.
- WIGHT, P. A. L.; DEWAR, W. A.; MACKENZIE, G. M. Monocytosis in experimental zinc deficiency of domestic birds. **Avian Pathology**, v.9, p.61-66, 1980.

WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of eritrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematology**, Leipzig, v.51, p.31, 1934.

VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P. E.; CHACÓN, J. L. V.; ASSAYAG, M. S.; MAIORKA, P. C.; RAFFI, P.; SAIDENBERG, A. B. S.; JONES, R. C.; FERREIRA, A. J. P. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. **Avian Diseases**, kennett Square, v.51, p.900-904, 2007.

YAMAN, M. A.; KITA, K.; OKUMURA, J. I. Various macronutrients intakes additively stimulate protein synthesis in liver and muscle of food-deprived chicks. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, p.70-76, 2002.

YOSHIZAWA, F.; ENDO, M.; IDE, H.; YAGASAKI, K.; FUNABIKI, R. Translational regulation of protein synthesis in the liver and skeletal muscle on mice in response to refeeding. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, Lexinton, v. 6, p. 130-136, 1995.

## **CAPÍTULO 4 – COMPORTAMENTO SOROLÓGICO DE MATRIZES NEONATAS, VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA a BIG, SUBMETIDAS A DIFERENTES PERÍODOS DE JEJUM PÓS-ECLOSÃO.**

**RESUMO** - O presente trabalho foi desenvolvido em matrizes de frangos de corte com o objetivo de avaliar os efeitos da vacina, contra o vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), e do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão (0, 12, 24, 48 ou 72 h), tanto sobre o decaimento dos anticorpos maternos no compartimento local e no sistêmico, de aves não vacinadas contra a BIG, como sobre os perfis cinéticos das respostas imunes nestes compartimentos, de aves vacinadas contra a BIG, nas semanas iniciais de criação. Utilizou-se 720 matrizes que eclodiram em um intervalo pré-estabelecido de 8 h. As aves foram alojadas em câmaras climáticas e distribuídas em DIC em esquema fatorial 2 (vacinado ou não vacinado) X 5 período de jejum (0, 12, 24, 48, ou 72 h), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições de 18 aves. As aves vacinadas foram alojadas separadamente das não vacinadas. A vacinação foi realizada, após o alojamento, com vacina viva liofilizada contendo a amostra purificada H120 do VBIG. Após o término do período de jejum empregado em cada tratamento, as aves foram alimentadas *ad libitum*. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Períodos de jejum hídrico-alimentares pós-eclosão de até 72 h não afetaram o decaimento dos anticorpos maternos contra o VBIG no soro e na secreção lacrimal, com exceção de uma queda no título de IgG menos pronunciada no soro das aves expostas ao maior período de jejum. A resposta imune humoral não foi verificada no compartimento sistêmico, houve efeito imunomodulador do jejum pós-eclosão de 48 h na secreção lacrimal, bem como o jejum de 72 h mostrou efeito negativo sobre a resposta imune local. Os dados do presente estudo sugerem que períodos de 72 h de jejum devem ser evitados.

**Palavras-Chave:** Bronquite infecciosa das galinhas, imunidade materna, jejum pós-eclosão, matrizes, vacina

## Introdução

A bronquite infecciosa das galinhas (BIG), doença altamente infecciosa e de grande impacto econômico, causada pelo vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), um coronavírus (CAVANAGH; NAQI, 1997) encontra-se disseminada praticamente em todas as regiões do mundo, inclusive no Brasil.

A transmissão da BIG ocorre de forma direta (exudato de aves infectadas ou doentes) ou indireta (fômites) via trato respiratório. O período de incubação do VBIG varia de 18 a 36 horas em média (CAVANAGH; NAQI, 1997).

O VBIG pode determinar lesões nas células epiteliais ciliadas da mucosa do sistema respiratório, principalmente em aves jovens, resultando em alta morbidade e, em alguns casos, em alta mortalidade. De acordo com o tropismo da cepa, o VBIG também pode se replicar e comprometer órgãos do trato intestinal, urinário, reprodutivo, e até nos músculos (VILLARREAL et al., 2007), outrossim tendo importância sobre criações de aves de vida longa.

Pesquisas têm mostrado que a resposta imune humoral tanto no compartimento local como no sistêmico têm ação importante na defesa da ave, podendo conferir resistência específica contra a infecção pelo VBIG.

A principal medida profilática da BIG é realizada através de vacinas vivas e ou inativadas (CAVANAGH; NAQI, 1997), no entanto, estas medidas não têm efeito nos primeiros dias de vida das aves.

De fato, o sistema imune de pintainhos recém-eclodidos não responde ativamente aos agressores externos, sua proteção depende da imunidade inata bem como dos anticorpos maternos adquiridos passivamente através do saco vitelínico (ABBAS; LICHTMAN, 2005). Os anticorpos maternos, particularmente aqueles do isotipo IgG, transferidos de avós vacinadas contra BIG à sua progênie, são capazes de conferir proteção para as matrizes neonatas contra o desafio com o VBIG, por até 4 semanas (DARBYSHIRE; PETERS, 1985). Enquanto, Mockett et al. (1987) concluíram que a duração da proteção seria de 7 dias, utilizando pintainhos infectados por *E. coli*.

Em condições de campo, tem ocorrido desuniformidade de títulos de anticorpos entre matrizes jovens de um mesmo lote. Alguns fatores têm sido investigados como

responsáveis por esta situação, como a heterogenia de títulos de imunoglobulinas das avós, e diferenças entre as matrizes quanto ao momento do contato com antígenos vacinais ou de campo. No entanto, quase não se atentou para a interferência da duração do período de jejum pós-eclosão sobre a absorção de imunoglobulinas maternas presentes no saco vitelínico.

As imunoglobulinas (Ig) maternas, principalmente a IgG são transferidas, principalmente no terço final da incubação, através do saco vitelínico à circulação sangüínea do embrião, sendo que a taxa de transferência é proporcional à concentração sorológica de IgG da matriz (KRAMER; CHO., 1970; KOWALCZYK; HALPERN; ROTH, 1985), o que poderia explicar parcialmente a diversidade de títulos das matrizes neonatas.

A diferença na duração do período de jejum, entre aves alojadas a curtas e a longas distâncias do incubatório, pode explicar outra fração da diversidade de títulos entre matrizes originárias de um mesmo lote de avós. Uma parcela de IgG presente no saco vitelínico é absorvida na mucosa intestinal do pintainho, nas suas primeiras horas de vida pós-eclosão, de maneira semelhante à absorção de IgM e IgA (ROSE; ORLANS, 1981; LOEKEN; ROTH, 1983; KASPERS et al., 1996). O jejum prolongado interfere negativamente sobre a quantidade de anticorpos maternos absorvidos pelo pintainho, pois para atender suas necessidades fisiológicas, aves submetidas a longas horas de jejum degradam as imunoglobulinas presentes no saco vitelino e as utilizam como fonte de energia (DIBNER et al., 1998).

Existem relatos de que a restrição alimentar pode alterar tanto a resposta imune mediada por células, como a resposta imune humoral. Deficiências dietéticas reduzem a resposta imune humoral em humanos (GROS; NEWBERNE, 1980), em ratos (NALDER et al., 1972), em camundongos (MATHUR; RAMALINGASWAMI; DEO, 1981) e em galinhas (BEM-NATHAN; HELLER; PEREK, 1977; GLICK; DAY; THOMPSON, 1981). Enquanto, tanto a resposta imune celular como a resposta humoral podem ser aumentadas em aves mantidas em jejum por curtos períodos (12 a 24 horas), presumivelmente devido a uma situação endócrina favorável (KLASING, 1988). Em contrapartida, o jejum prolongado promove elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona e alteração na contagem de leucócitos, o que pode inferir negativamente

sobre a resposta imune celular e humoral (HOLT et al., 1992; HOCKING et al., 1993; CASTEEL, 1994; HOCKING et al., 1996; KUBIKOVA et al., 2001).

Vários estudos discorrem sobre a importância da prevalência de bons títulos de anticorpos ao longo das primeiras semanas de vida de matrizes, tanto sistematicamente como localmente, na prevenção de danos ou mortalidade frente a eventuais desafios pelo VBIG. O grau de proteção depende da quantidade de anticorpos maternos recebidos, da taxa de decaimento dos anticorpos maternos, bem como da produção de imunoglobulinas pela matriz a partir de estímulos antigênicos tanto sistematicamente como localmente. No entanto, não foi comprovado se períodos de jejum pós-eclosão de 0 a 72 horas interferem no montante de anticorpos de origem materna transferidos à progênie, bem como qual a influência, dos mesmos períodos de jejum, na resposta imune humoral à vacinação contra a BIG.

Outros estudos têm indicado a resposta imune humoral junto à secreção lacrimal como forma de avaliar a imunidade pós-vacinal contra o VBIG, especialmente aquela modalidade que é mediada por anticorpos do isótipo IgA (COOK et al., 1992; TORO; FERNANDEZ, 1994; MONDAL; NAQI, 2001). No entanto, por critérios de praticidade e de menor custo operacional, Lancellotti et al. (2002) propuseram que a escolha do marcador de imunidade deveria recair primeiramente sobre os anticorpos anti-VBIG da secreção lacrimal pertencentes ao isótipo IgG, que apresentaram melhor nível de associação com o estado de proteção ao desafio do que os anticorpos anti-VBIG pertencentes ao isótipo IgA.

O presente estudo foi desenvolvido com dois objetivos, sendo o primeiro avaliar o efeito do jejum hídrico-alimentar pós-eclosão, durante 0, 12, 24, 48 e 72 horas, sobre o decaimento dos anticorpos maternos, no compartimento local e no sistêmico, em matrizes de corte não vacinadas contra a BIG, durante as três semanas iniciais de criação. O segundo objetivo foi de avaliar o efeito dos mesmos períodos de jejum hídrico-alimentar pós-eclosão sobre os perfis cinéticos das respostas imunes, no compartimento local e no sistêmico, em matrizes de corte vacinadas contra a BIG, durante as três semanas iniciais de criação.



## Material e Métodos

### Período Pré-experimental

A incubação foi realizada de acordo com os procedimentos de rotina do Incubatório de Ajapi da Empresa Perdigão Agroindustrial S/A, onde foram utilizados ovos incubáveis ( $63,69 \pm 0,81\text{g}$ ) da linhagem Cobb 500 Slow<sup>®</sup> provenientes de um mesmo lote de avós com 37 semanas de vida. Os ovos foram estocados a 18°C durante 10 dias. Antes da incubação, os ovos foram pré-aquecidos durante 8 horas em uma sala com temperatura ambiente de 30°C e umidade relativa entre 60 e 65%. A incubação foi realizada em uma mesma incubadora<sup>3</sup> com temperatura de 37,5 °C e umidade relativa de 60 - 65 %. Com 240 horas de incubação foi realizada a ovoscopia para descartar os ovos não viáveis. Com 456 horas de incubação (19 dias) os ovos foram transferidos para os nascedouros<sup>2</sup>, que foram mantidos com temperatura interna e umidade relativa de 36,5 °C e 70 %, respectivamente. Durante a transferência dos ovos procedeu-se a vacinação dos pintainhos via “in ovo” contra a doença de Marek. Visando uma maior uniformidade no tempo de incubação, e baseando-se na janela de eclosão obtida nesse incubatório, foram utilizadas no experimento somente as pintainhas nascidas entre 492 e 500 horas de incubação. Para isso, às 492 horas de incubação os nascedouros foram abertos e os pintainhos nascidos foram retirados das bandejas de nascimento e remanejados, estas aves não foram utilizadas para o experimento. Às 500 horas de incubação 2000 pintainhos nascidos no intervalo (492 a 500 horas) foram remanejados para bandejas vazias e foram imediatamente direcionadas para a sexagem pela cloaca, ao final da sexagem, que durou cerca de 3 horas, 750 pintainhas foram transportadas imediatamente até as dependências do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP/Jaboticabal, situada a uma distância de 180 km do incubatório, onde o experimento foi conduzido. O tempo de transporte das aves do incubatório à Faculdade foi de 3 horas. Desta forma, as aves nascidas logo após as 492 horas foram submetidas a um período máximo de 14 horas de jejum até o início dos tratamentos (tempo zero) e a diferença máxima em

---

<sup>3</sup> Incubadora CASP Mg 62 “i”<sup>®</sup>

horas entre os nascimentos foi de 8 horas. Assim, o tempo zero correspondeu ao momento usual de saída das aves do nascedouro.

## Período experimental

### Delineamento

Imediatamente após a chegada ao Setor de Avicultura, as aves foram pesadas e separadas em faixas de peso de modo que os pesos médios das parcelas foram similares. Distribuíram-se as aves em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2X5, sendo os fatores a vacinação (vacinado ou não vacinado) e o período de jejum hídrico-alimentar (0, 12, 24, 48 ou 72 horas) totalizando 10 tratamentos com quatro repetições de 18 aves cada. As parcelas foram distribuídas em boxes (no piso) em duas câmaras climatizadas, separando as parcelas vacinadas das não vacinadas. As aves foram criadas durante as primeiras 3 semanas de vida. A ração fornecida foi à base de milho e farelo de soja, formulada de acordo às exigências nutricionais da linhagem (NRC, 1994). O fornecimento de ração e água iniciou-se após o período de jejum, dependendo do tratamento e o programa alimentar utilizado foi ad libitum. As câmaras foram mantidas na temperatura termoneutra de acordo à idade das aves. O programa de luz adotado foi de 23 horas de luz na primeira semana, 20 horas na segunda e 16 horas na terceira. A intensidade de luz foi de 25 lux durante todo o programa de luz.

### Vacinação

A vacinação contra a BIG foi realizada no momento do alojamento, via óculo-nasal (1 gota/via) com vacina “viva” liofilizada, contendo um total de  $10^4$  DIE<sub>50</sub>/dose da amostra MASSACHUSETTS (H-120) do vírus da bronquite infecciosa das galinhas, da Biovet. As aves vacinadas foram mantidas em câmara distinta das aves não vacinadas. Com o intuito de evitar a propagação do vírus das aves vacinadas para as não vacinadas, o manejo de cada uma das câmaras foi procedido por pessoas diferentes.

---

<sup>2</sup> Nascedouro CASP Ug 21 “e”<sup>®</sup>

### Variáveis avaliadas

No 3°, 5°, 7°, 14° e 21° dia de vida, uma ave por unidade experimental representando o peso médio da parcela foi selecionada para mensuração de Anticorpos dos Isotipos IgG para BI tanto do soro sanguíneo como da secreção lacrimal.

### Coletas de sangue e lágrima

A secreção lacrimal foi colhida através da estimulação da mucosa ocular com glicerol, por 15 segundos, para que ocorresse o lacrimejamento, e com auxílio de uma micropipeta e ponteira de 200µL, a secreção lacrimal foi colhida e separada em alíquotas, sendo estocada a -20°C.

Após a coleta de lágrima procedeu-se a coleta de 4 mL de sangue, sendo que amostras de 2 mL de sangue foram coletadas em microtubos e posteriormente centrifugadas, o soro obtido foi transferido através de micropipeta para dois novos microtubos devidamente identificados, de forma que as alíquotas foram congeladas a -20°C, em freezer. Uma delas foi utilizada para a mensuração de anticorpos presentes no soro.

As avaliações de título e da especificidade do soro e da secreção lacrimal (amostras, referência positiva e referência negativa) para o VBIg foram determinadas através do método Sandwich-ELISA-Concanavalina A (S-ELISA-ConA) (BRONZONI *et al.*, 2005). As amostras de referência positiva e negativa, utilizadas foram fornecidas pelo laboratório Imunologia veterinária do Departamento de Microbiologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Considerou-se como referência negativa amostras de lágrima e soro obtidas de aves SPF criadas em isolador, já as referências positivas foram obtidas de aves SPF criadas em isolador e submetidas a um programa de vacinação para BIG conforme descrito por Lancellotti (2002).

### Preparação do antígeno viral

A estirpe Massachusetts-41 (M41) do VBIg em líquido alantóide (LA), contendo  $10^7$  Doses Infectantes Embrionárias 50% por mililitro ( $DIE_{50\%}$ / mL), foi inoculada na cavidade alantóide de ovos embrionados, livres de patógenos específicos (SPF-

“Specific Pathogen Free”), com 9 a 11 dias de incubação, no volume de 100 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) por ovo. Decorridas 36 horas de inoculação, os ovos foram resfriados por, no mínimo, 4 horas à temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, com o auxílio de seringa e agulha, o LA foi colhido da cavidade alantóide e o volume final, clarificado por centrifugação, a  $10.000\text{ g}/30\text{ minutos}$  a  $4^{\circ}\text{C}$ , para eliminação de resíduos celulares.

#### Amostras de soro e secreção lacrimal de galinha

Amostras de soro e de secreção lacrimal de referência positiva e negativa de galinha anti-VBIG foram obtidos através

#### Conjugado Imunoenzimático

Utilizou-se o conjugado imunoenzimático constituído de IgG de coelho contra o isotipo IgG de galinha (Bethyl, Laboratories), sendo ele conjugado com a enzima peroxidase. A diluição ideal deste conjugado foi determinada e encontra-se descrita no item mensuração de anticorpos no soro sanguíneo e na secreção lacrimal.

#### Mensuração de anticorpos no soro sanguíneo e na secreção lacrimal

Primeiramente, determinaram-se as concentrações / diluições ótimas de uso do reagente de captura (Concanavalina A), da suspensão antigênica bruta do VBIG (amostra H120) em LCA e das amostras de soro ou de secreção lacrimal de galinha. As determinações foram procedidas através da titulação, em bloco, fazendo-se reagir, diferentes concentrações de ConA (0,250; 0,5; 1,0 e 2,0 mg/mL) com duas diluições da suspensão antigênica viral (1:2 e 1:4) e com diversas diluições (1:50; 1:100; 1:200 e 1:400) de soros e (1:50; 1:100 e 1:200) de secreção lacrimal de galinha, de referência positiva e de referência negativa para VBIG. A partir da realização desta técnica, adsorveram-se as placas com 0,250 mg/mL as de ConA para as amostras de soro, e 0,500 mg/mL para as amostras de lágrima, ambas preparadas em PBS (0,01M de  $\text{PO}_4$ , 0,15M de NaCl, pH 7,4), sendo as reações incubadas “over night” a  $4^{\circ}\text{C}$ . Depois as microplacas foram bloqueadas com tampão Carbonato-Bicarbonato, pH 9,6 acrescido de 10% de LPD por 45 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, foram adicionadas as suspensões antigênicas do VBIG em LCA, diluída (1/4) para as amostras de soro e  $\frac{1}{2}$  para as

amostras de lágrima, ambas em PBSt-10% de LPD, sendo as reações incubadas por 1 hora a 37°C. Ao final desta etapa, foram adicionadas as diluições únicas, previamente determinadas como ideais, das amostras testes de soro sanguíneo (1/100) ou de secreção lacrimal (1/50) e das amostras de referência positiva e negativa contra o VBIG, do soro (1/100) ou da secreção lacrimal (1/50), preparadas em PBSt e LPD, incubando-se as microplacas, de maneira idêntica à etapa anterior. As microplacas receberam, na fase subsequente, uma diluição ideal do conjugado imunoenzimático anti-IgG de galinha com a peroxidase., incubando-se as microplacas de maneira idêntica a etapa anterior. Finalmente, foi adicionada a mistura 50µL de solução contendo 50 µL de peróxido de hidrogênio (substrato) a 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o cromógeno (Orto-Fenileno-Diamina) a 5 mg preparado em 12,5 mL de tampão citrato pH 5,0, aguardando-se a reação enzimática se desenvolver por 15 minutos à temperatura ambiente, quando, então, foi bloqueada a atividade enzimática com a adição de 50µL/cavidade de HCL 2N.

As densidades ópticas (DO) obtidas foram lidas em um leitor de microplacas de ELISA (BIO-RAD, Modelo-550), em um comprimento de onda de 590nm. A média das DO, para cada amostra teste, foi transformada em valor A/P (amostra/positivo), calculado através da seguinte fórmula:

$$A/P = (Z - X) / (Y - X), \text{ onde:}$$

Z = DO média da amostra teste (soro ou secreção lacrimal)

X = DO média do controle negativo (soro ou secreção lacrimal)

Y = DO média do controle positivo (soro ou secreção lacrimal)

#### Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, através do procedimento GLM do SAS<sup>®</sup> (2002). Para atender as pressuposições da análise de variância foram utilizadas transformações individuais por meio do procedimento Guided Data Analysis do SAS (2002). Utilizou-se a transformação  $\log_{10}(x + 2)$ , onde x= valor de A/P na lágrima. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento *GLM (General Linear Models)* do programa SAS<sup>®</sup> e em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados

### Matrizes de corte não vacinadas contra a BIG

O efeito do jejum sobre o decaimento dos anticorpos maternos contra o VBIG, mensurado como anticorpos da classe IgG, foi determinado através do teste de S-ELISA-ConA em amostras de secreção lacrimal e de soro sanguíneo de matrizes não vacinadas contra a BIG. A tabela de probabilidades (Tabela 1), mostra que o jejum exerceu influência ( $p < 0,05$ ) aos 3 dias sobre o título médio de anticorpos no soro.

Tabela 1. Valores de p e de coeficiente de variação referentes ao efeito do jejum sobre o título médio de anticorpo anti-VBIG, em amostras de secreção lacrimal e de soro sanguíneo, de matrizes de corte não vacinadas contra a BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
		Soro				
Probabilidade	Jejum (J)	0,0156 *	0,2548	0,4331	0,9663	0,3801
CV (%)		17,65	25,88	43,27	52,05	73,82
		Secreção lacrimal				
Probabilidade	Jejum (J)	0,8352	0,8664	0,5857	0,8271	0,3422
CV (%)		18,35	7,19	9,23	16,07	3,06

\* Estatisticamente significativo ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito de cada período de jejum sobre o decaimento de anticorpos maternos, da classe IgG, contra o VBIG, em amostras de soro sanguíneo de matrizes não vacinadas contra a BIG, encontra-se no Gráfico 1.

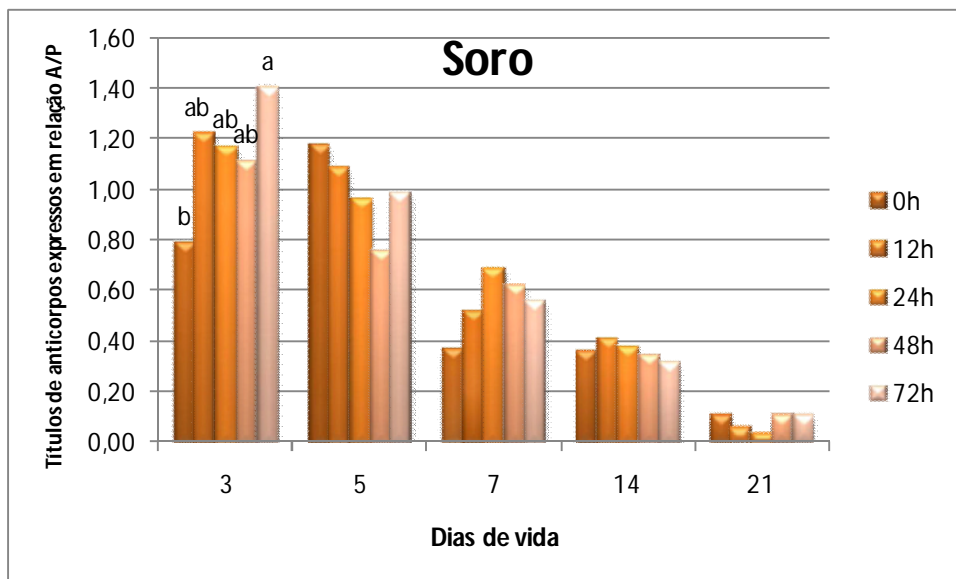


Gráfico 1. Cinética de decaimento dos anticorpos maternos IgG contra a BIG, no soro de matrizes de corte não vacinadas e submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Dentro de cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 3 dias de vida, o título de anticorpos da classe IgG no soro de aves mantidas em jejum foi superior ao das aves alimentadas ao alojamento (Gráfico 1).

O efeito de cada período de jejum sobre o decaimento de anticorpos maternos da classe IgG contra o VBIG, em amostras de secreção lacrimal de matrizes não vacinadas contra a BIG, encontra-se no Gráfico 2.

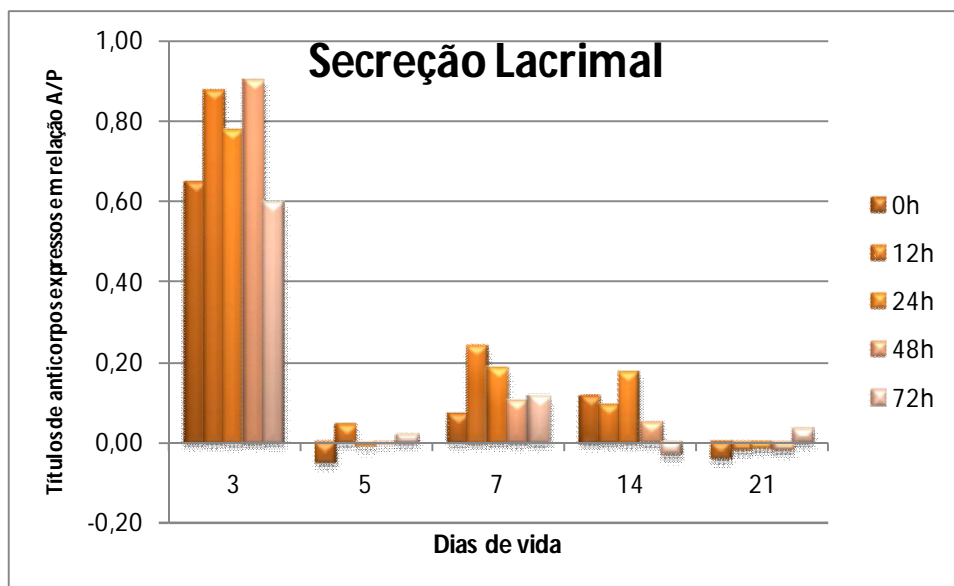


Gráfico 2. Cinética de decaimento dos anticorpos maternos IgG contra a BIG, na secreção lacrimal de matrizes não vacinadas e submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Dentro de cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

O jejum não exerceu influência ( $p > 0,05$ ) sobre o decaimento de anticorpos maternos contra o VBIG, da classe IgG, em amostras de secreção lacrimal.

#### Matrizes de corte vacinadas contra a BIG

O efeito do jejum sobre a cinética da resposta imune humoral contra o VBIG, mensurada como anticorpos da classe IgG, foi determinado através do teste de S-ELISA-ConA, em amostras de secreção lacrimal e de soro sanguíneo de matrizes vacinadas contra a BIG. A tabela de probabilidades (Tabela 2), mostra que o jejum exerceu influência ( $p < 0,05$ ) sobre o título médio de anticorpos no soro aos 14 dias, e sobre o título médio de anticorpos na secreção lacrimal nos dias 5 e 21.



Tabela 2. Valores de p e de coeficiente de variação referentes ao efeito do jejum sobre o título médio de anticorpo anti-VBIG, em amostras de secreção lacrimal e de soro sanguíneo, de matrizes de corte vacinadas contra a BIG.

		Idade (dias)				
		3	5	7	14	21
<b>Soro</b>						
Probabilidade	Jejum (J)	0,3389	0,3713	0,1464	0,0438 *	0,1916
CV (%)		25,69	30,68	22,07	41,62	97,98
<b>Secreção lacrimal</b>						
Probabilidade	Jejum (J)	0,4612	<0,001 *	0,1504	0,0854	0,0079 *
CV (%)		22,74	4,33	3,36	10,94	11,01

\* Estatisticamente significativo ao nível de 5% de probabilidade.

O efeito de cada período de jejum sobre cinética da resposta imune humoral contra o VBIG, em amostras de soro sanguíneo, encontra-se no Gráfico 3.

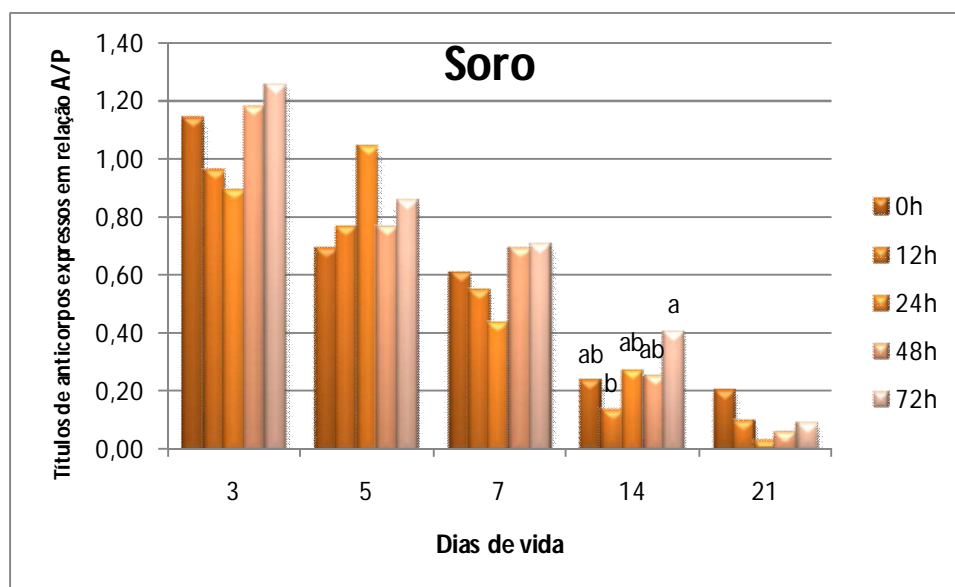


Gráfico 3. Cinética da resposta imune humoral contra a BIG, no soro de matrizes de corte vacinadas e submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Dentro de cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 14 dias de vida, o título de anticorpos das aves mantidas em jejum por 72 horas após o alojamento foi superior ao daquelas alimentadas com atraso de 12 horas. Nas demais idades, nenhuma influência do jejum foi verificada. A análise do Gráfico 3 mostra que com o avançar da idade há uma tendência de queda nos títulos de IgG no

soro das aves. Além disso, nota-se que decorridas três semanas da vacinação não houve soroconversão no compartimento sistêmico.

O efeito de cada período de jejum sobre cinética da resposta imune humoral contra o VBIG, em amostras de secreção lacrimal encontra-se no Gráfico 4.

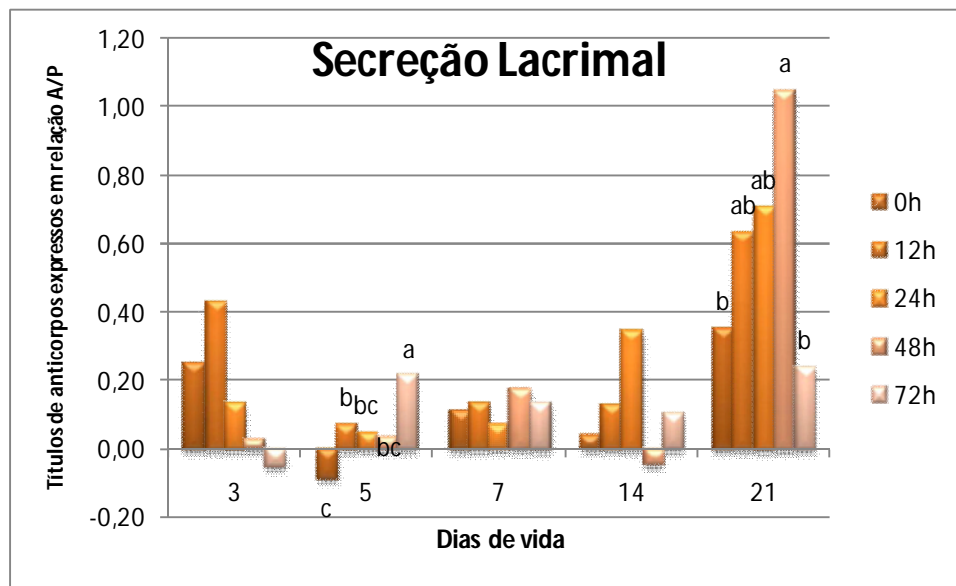


Gráfico 4. Cinética da resposta imune humoral contra a BIG, na secreção lacrimal de matrizes de corte vacinadas e submetidas a diferentes períodos de jejum pós-eclosão. Dentro de cada idade, letras diferentes revelam diferença estatística pelo Teste de Tukey (5%).

Aos 5 dias de vida, o título de anticorpos na secreção lacrimal das aves mantidas em jejum por 72 horas foi superior ao das submetidas a períodos inferiores de jejum, enquanto, as aves mantidas em jejum por 12 horas apresentaram maior título de anticorpos na secreção lacrimal que as alimentadas ao alojamento.

Aos 21 dias de vida, aves mantidas em jejum por 48 horas apresentaram maior título de anticorpos na lágrima que as alimentadas ao alojamento e que as mantidas em jejum por 72 horas.

## Discussão

### Matrizes de corte não vacinadas contra a BIG

Os dados referentes ao decaimento dos anticorpos maternos no soro e na secreção lacrimal do presente estudo indicam que o jejum não acentua a queda dos anticorpos maternos, tanto no soro sanguíneo, como na secreção lacrimal. Pelo contrário, após três dias de jejum a concentração de imunoglobulinas no soro das aves que não haviam se alimentado até então foi superior a das aves que não foram submetidas ao jejum. Desta forma, uma das hipóteses testadas na presente pesquisa não foi confirmada, e duas explicações para isso foram levantadas.

A primeira refere-se à possibilidade do montante de imunoglobulinas maternas sobressalentes no saco vitelínico após a eclosão seja absorvido diretamente do interior do saco vitelínico via circulação sanguínea. De fato, alguns estudos já haviam enfatizado que a maior parte das imunoglobulinas maternas depositadas no saco vitelínico dos embriões é absorvida durante a vida embrionária dos pintainhos (KRAMER; CHO, 1970; KOWALCZYK; HALPERN; ROTH, 1985). Assim, a quantidade de imunoglobulinas residuais na gema após o nascimento das aves não deve ser tão expressiva como se pensava.

A segunda explicação para o achado seria uma redução no volume plasmático em resposta ao jejum hídrico-alimentar prolongado, o que teria promovido um aumento indireto do título de IgG no soro. De fato, no capítulo 3 ficou demonstrado que o jejum promove aumento indireto de alguns constituintes do sangue, dentre eles as globulinas plasmáticas, a qual corresponde à fração das proteínas plasmáticas que engloba as diversas classes de imunoglobulinas (Capítulo 3).

Desta forma, foi verificado que períodos de jejum de até 72 horas não afetam o decaimento dos anticorpos maternos contra o VBIG, tanto sistematicamente, como localmente.

### Matrizes de corte vacinadas contra a BIG

Os dados do presente estudo, quanto à cinética da resposta imune humoral local e sistêmica de matrizes de corte vacinadas contra a BIG, indicam que uma única dose de

vacina “viva” atenuada contra a BIG não foi capaz de induzir resposta imune humoral no compartimento sistêmico. No entanto, no compartimento local, houve indução de resposta imune humoral de forma dependente ao período de jejum que as aves receberam. O jejum de até 48 horas exerceu efeito imunomodulador na resposta imune humoral, mensurada no compartimento local. No entanto, quando o jejum foi estendido para 72 horas após a eclosão houve queda na resposta imune humoral. De fato, existem estudos discorrendo sobre a imunomodulação em resposta a períodos curtos de jejum no compartimento sistêmico. Klasing (1988) encontrou elevação na resposta imune humoral e na celular no compartimento sistêmico de aves mantidas em jejum por curtos períodos (12 a 24 horas). De forma semelhante à descrita neste experimento, outros autores (HOLT et al., 1992, CASTEEL, 1994; HOCKING et al., 1993; HOCKING et al., 1996; KUBIKOVA et al., 2001), mostraram que o jejum excessivo infere negativamente sobre a resposta imune celular e humoral sistêmica.

De acordo com Klasing (1988), a imunossupressão promovida pelo jejum prolongado, possivelmente esteja relacionada à elevação dos níveis plasmáticos de corticosterona e alteração na contagem de leucócitos. Todavia, embora tenha ocorrido elevação na relação H/L aos 5 dias de vida, nas matrizes submetidas a 72 horas de jejum do presente estudo, indicando estresse, a contagem total de leucócitos não foi alterada diretamente pelo jejum (Capítulo 3).

Provavelmente a não ocorrência de teores significativos de anticorpos da classe IgG, durante todo período experimental, no compartimento sistêmico das matrizes vacinadas possa relacionar-se a presença de anticorpos maternos, visto o presente estudo ter utilizado matrizes de corte originárias de avós “hiper” imunizadas. De fato, Gelb Jr. et al. (1998), ao mensurar anticorpos totais anti-VBIG, encontraram respostas mais precoces e de maior magnitude em resposta a vacinação, quer seja na secreção lacrimal, quer seja no soro sanguíneo de aves SPF comparativamente a aves comerciais.

Gelb jr. et al, (1998) observaram que uma dose vacinal da estirpe Connaught- M-41 do VBIG induziu nos intervalos de 14, 21 28 e 35 dias pós-vacinação (aves SPF) e 21, 28 e 35 dias pós-vacinação (aves comerciais) teores significativos de respostas imunes humorais contra o VBIG, tanto na secreção lacrimal, como no soro sanguíneo

dessas aves. Deve ser enfatizado, que os autores encontraram em todos os períodos, títulos mais baixos no soro sanguíneo do que na lágrima, tanto nas aves comerciais como nas SPF.

É provável que as diferenças, quanto à ocorrência de teores significativos de anticorpos no soro após 21 dias da vacinação, entre as matrizes de corte deste estudo, e as aves comerciais do estudo de Gelb Jr. et al. (1998), estejam relacionadas a questões metodológicas. Visto que o referido estudo utilizou um Kit comercial constituído por conjugado imunoenzimático anti-Igs totais de galinha, detectando desta forma anticorpos totais, enquanto o presente estudo utilizou o método (S-ELISA-ConA) constituído por conjugado imunoenzimático anti-IgG de galinha, detectando desta forma apenas anticorpos da classe IgG.

Embora seja conhecido que os anticorpos da classe IgG contra o VBIG presentes no fluido lacrimal provêm principalmente do soro sanguíneo, de onde são transportados através de processo ativo que ocorre na glândula de Harder, algumas pesquisas mostraram que a glândula harderiana pode promover a concentração desta classe de anticorpos no compartimento local (secreção lacrimal) (DAVELAAR; NOORDDZIJ, VANDER DONK, 1982; TORO et al., 1993). Esta situação pode justificar a ocorrência de bons títulos de anticorpos da classe IgG na secreção lacrimal verificada 21 dias após a vacinação.

Portanto, o jejum hídrico-alimentar pós-eclosão pode exercer influência sobre a resposta imune humoral no compartimento local. Não obstante mais estudos envolvendo a interface jejum pós-eclosão e resposta imune contra o VBIG sejam necessários, os diferentes períodos de jejum que aves alojadas a curtas e longas distâncias do incubatório são submetidas deveriam ser considerados na adoção de esquemas imunoproláticos contra a BIG.

## **Conclusões**

O jejum hídrico-alimentar de 72 horas pós-eclosão não afeta o decaimento dos anticorpos maternos contra o VBIG em matrizes de corte nos compartimentos local e sistêmico, no entanto, possui efeito imunossupressivo sobre a resposta imune humoral no compartimento local, deve ser evitado.

O jejum hídrico-alimentar de 48 horas pós-eclosão possui efeito imunomodulador da resposta imune humoral no compartimento local.

## Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. Mecanismos efetores da imunidade humoral. In: PONTES, L. (Ed.) **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 580p.
- BEN-NATHAN, B. D.; HELLER, E. D.; PEREK, M. The effect of starvation on antibody production of chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.56, p.1468-1471, 2003.
- BRONZONI, R. V. M.; MONTASSIER, F. M. S.; PEREIRA, G. T.; GAMA, N. M. S. Q.; SAKAI, V.; MONTASSIER H. J. Detection of Infectious Bronchitis Virus and Specific Anti-Viral Antibodies using a concanavalin A-Sandwich-ELISA. **Viral Immunology**, New Rochelle, v.18, p.569-578, 2005.
- CASTEEL, E. T., WILSON, J. L.; BUHR, R. J.; SANDER, J. E.. The influence of extended posthatch holding time and placement density on broiler performance. **Poultry Science**, Champaign, v.73, p.1679–1684, 1994.
- CAVANAGH, D.; NAQI, S. Infectious bronchitis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W. (Ed.) **Diseases of poultry**. 10.ed. Ames: Iowa State University Press, 1997, p.511-526.
- COOK, J.K.A.; OTSUKI, K.,; Da SILVA MARTINS, N.R.; ELLIS, M.M.; HUGGIS, M.B. The secretory antibody response in inbred lines of chickens to avian infectious bronchitis virus infectious. **Avian Pathology**, v.21, p.681-92, 1992.
- COOK, M. E. Nutritional effects on vaccination. **Advances in Veterinary Medicine**, v.41, p.53-59, 1999.
- DARBYSHIRE, J. H.; PETERS, R. W.; Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus. **Research in Veterinary Science**, London, v.34, p.14-21, 1985.
- DAVELAAR, F. G.; NOORDZII, A.; AN DER DONK, J. A. A study on the synthesis and secretion of immunoglobulins by the Harderian gland of the fowl after eyedrop vaccination against infectious bronchitis at 1-day-old. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.11, p.63-79, 1982.

- DIBNER, J.J.; KNIGHT, C.D.; KITCHELL, M.L.; ATWELL, C.A.; DOWNS, A.C.; IVEY, F.J.; Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v.7, p.425-436, 1998.
- GELB, J. Jr.; NIX, W.A.; GELLMAN, S.D. Infectious Bronchitis Virus Antibodies in Tears and Their Relationship to Immunity. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.42, p.364-374, 1998.
- GLICK, B. DAY, E. J.; THOMPSON, D. Calorie-deficiencies and the immune response of the chicken. I. Humoral immunity. **Poultry Science**, Champaign, v.60, p. 2494-2500, 1981.
- GROSS, R. L.; NEWBERNE, P. M. Role of nutrition in immunologic function. **Physiologic Reviews**, v. 60, p. 1143-1144, 1980.
- HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Relationships between the degree of food restriction and welfare indices in broiler breeder females. **British Poultry Science**, London, v.37, p. 263-78, 1996.
- HOCKING P.M.; MAXWELL M.H.; MITCHELL M.A. Welfare assessment of broiler breeder and layer females subjected to food restriction and limited access to water during rearing. **British Poultry Science**, London, v.34, p.443-58, 1993.
- HOLT, P. S., Effects of induced molting on immune responses of hens. **British Poultry Science**, London, v.33, p.165–175, 1992.
- KASPERS, B.; BONDL, GOBEL, T.W.F. Transfer of IgA from albumen into the yolk sac during embryonic development in the chicken. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, Berlin, v.43, p.225–231, 1996 (Abstract).
- KLASING, K. C. Influence of acute feed deprivation or excess feed intake on immunocompetence of broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v.67, p.626-634, 1988.
- KOWALCZYK, J. D.; HALPERN, J.; ROTH, T. F. Quantification of maternal – fetal IgG transport in the chicken. **Immunology**, Oxford, v.54, p.755-762, 1985.
- KRAMER, T. T.; CHO, H. C. Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hens egg. **Immunology**, Oxford, v.19, p.157-167, 1970.



KUBIKOVA, L.; VYBOH P.; KOXTAI, L. Behavioural, endocrine and metabolic effects of food restriction in broiler breeder hens. **Acta Veterinaria Brunensis**, v.70, p.247– 57, 2001.

LANCELLOTTI, M. **Avaliação da imunidade local e sistêmica contra o vírus da bronquite infecciosa**. 2002. 111 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

LOEKEN, M. R.; ROTH, T. F. Analysis of maternal IgG subpopulations which are transported into the chicken oocyte. **Immunology**, Oxford, v. 49, p.21–28, 1983.

MATHUR, M.; RAMALINGASWAMI, V.; DEO, M. G. Influence of protein deficiency on 19S antibody-forming cells in rats and mice. **Journal of nutrition**, Philadelphia, v. 102, p. 841-846.

MOCKETT, A. P. A.; COOK, J. K. A.; HUGGINS, M. B. Maternally-derived antibody to infectious bronchitis virus: its detection in chick trachea and serum and its role in protection. **Avian Pathology**, Huntingdon, v.16, p.407-416, 1987.

MONDAL, S. P.; NAQI, S. A. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. **Veterinary immunology and immunopathology**, Amsterdam, v. 79, p. 31-40, 2001.

NALDER, B. N.; MAHONEY, A. W.; RAMAKRISHNAN, R.; HENDRICKS, D. G. Sensitivity of the immunological response to nutritional status in rats. **Journal of nutrition**, Philadelphia, v. 102, p. 535-542, 1972.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirement of poultry. 9.ed. Washington: University press, 1994.

ROSE, M. E.; ORLANS, E. Immunoglobulins in the egg, embryo and young chick. **Developmental and Comparative Immunology**, New York, v.5, p.15-20, 1981.

TORO, H.; FERNANDEZ, I. Lacrymal antibody response of specific pathogen free chickens and chickens with maternal immunity after infectious bronchitis virus vaccination. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 18, p. 267-274, 1994.

TORO, H.; LAVAUD, P.; VALLEJOS, P.; FERREIRA, A. Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens. **Avian diseases**, kennett Square, v.37, p.60-66, 1993.

VILLARREAL, L. Y. B.; BRANDÃO, P. E.; CHACÓN, J. L. V.; ASSAYAG, M. S.; MAIORKA, P. C.; RAFFI, P.; SAIDENBERG, A. B. S.; JONES, R. C.; FERREIRA, A. J. P. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.51, p.900-904, 2007.

## CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção brasileira de carne de frango vem se consolidando ao longo das últimas décadas entre as mais competitivas do mundo. Esse êxito do setor avícola envolve, entre outros fatores, o manejo adequado de matrizes recém-eclodidas e a implantação de programas vacinais que permitam às aves responder adequadamente a agentes patogênicos. Todavia, da eclosão até o alojamento, matrizes neonatas são submetidas a um período de jejum de aproximadamente 24 a 48 horas, que pode chegar a 72 horas, dependendo da distância entre incubatório e a granja. Contudo, a extensão deste período de jejum não é considerada na adoção de programas de imunização em matrizeiros comerciais.

O jejum pós-eclosão pode afetar significativamente os processos fisiológicos envolvidos na adaptação e maturação morfofuncional dos sistemas orgânicos durante a vida extra-ovo, com destaque para o desenvolvimento dos sistemas digestório e imune. Matrizes sujeitas a longos períodos de jejum podem apresentar reduzida capacidade digestiva e absorptiva e limitada capacidade de resposta frente a agentes patogênicos e ou vacinais, o que pode refletir em perdas produtivas. Por outro lado, ao utilizar nutrientes para responder a agentes vacinais e patogênicos, o sistema imune compete com os demais sistemas orgânicos e, desta forma limita a produção. Portanto, o conhecimento das alterações fisiológicas e imunológicas causadas pelo jejum é essencial para o desenvolvimento de formas mais adequadas de manejo.

Os dados de desempenho e de morfometria mostraram que longos períodos de jejum pós-eclosão (48 e 72 horas) prejudicam o crescimento alométrico dos órgãos do trato gastrintestinal, promoveram reduções na altura das vilosidades e na profundidade das criptas intestinais, bem como elevaram a densidade de células caliciformes produtoras de mucina neutra, o que provavelmente, traduziu-se em prejuízo no potencial digestivo, absorptivo e metabólico destas aves. Ainda em relação aos dados de desempenho e de morfometria, a vacina contra a bronquite infecciosa das galinhas não afetou o crescimento alométrico dos órgãos gastrintestinais, porém influenciou parâmetros de morfometria intestinal (AV, PC, CCC), e reduziu, tanto o GP aos 7 dias,

como os valores de CA e CR aos 21 dias. Tais alterações, possivelmente, são o resultado das ações direta e indireta do vírus vacinal no organismo da ave. A primeira baseia-se na energia despendida pela ave na geração da resposta imune contra o agente vacinal. A segunda refere-se, entre outros aspectos, à diminuição do apetite durante a fase aguda da infecção.

Com relação à análise hematológica, observou-se que o jejum hídrico-alimentar de 72 horas promoveu alterações nas séries vermelha e branca e na concentração das proteínas plasmáticas de matrizes, estes resultados indicam que tal período de jejum induz a desidratação e o estresse nas aves. No tocante ao efeito da vacina contra a BIG sobre o quadro hematológico não houve alteração nos parâmetros da série vermelha das matrizes. No entanto, houve alteração na concentração de proteína plasmática e no percentual de leucócitos do sangue circulante. Estes dados evidenciam a resposta humoral ao estímulo vacinal e sugerem um efeito imunomodulador em resposta ao jejum de 48 horas.

Os ensaios imunoenzimáticos mostraram que 72 horas de jejum pós-eclosão não afetaram o decaimento dos anticorpos maternos contra o VBIG nos compartimentos local e sistêmico de matrizes de corte. No entanto, o mesmo período de jejum causou imunossupressão sobre a resposta imune humoral no compartimento local. O jejum hídrico-alimentar de 48 horas pós-eclosão revelou efeito imunomodulador da resposta imune humoral no compartimento local.

Em suma, o presente estudo mostra que o jejum pós-eclosão prolongado deve ser evitado, pois prejudica o bem estar das matrizes neonatas, afetando processos fisiológicos que podem torná-las susceptíveis à ação de patógenos, bem como, prejudicar seu crescimento.