UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO INTESTINO E HEMATOLÓGICA DE AVES DE CORTE (*Gallus galus domesticus*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Salmonella* ENTERITIDIS E SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA

Elton Vinicius Sterzo
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO INTESTINO E HEMATOLÓGICA DE AVES DE CORTE (*Gallus galus domesticus*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Salmonella* ENTERITIDIS E SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA

Elton Vinicius Sterzo
Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Boleli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária - Área de Concentração em Patologia Animal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2007

DADOS CURICULARES DO AUTOR

ELTON VINICIUS STERZO – Nascido em Leme – SP no dia 24 de setembro de 1978, graduou-se em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal em Janeiro de 2005. Em março de 2005 iniciou o curso de mestrado em Medicina Veterinária no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal.

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito ... Não somos o que deveríamos ser, não somos o que iremos ser, mas Graças a Deus não somos o que éramos”

Martin Luther King

Aos meus queridos pais

ETHOCLES & ELZA

Presentes nos caminhos escolhidos em minha vida sempre com muita dedicação, esforço e principalmente amor

Aos meus irmãos e cunhada

CLAYTON, CHISTIANE, EVERTON & ANA

E minha sobrinha

CAROLINA

Que apesar da separação por Km de distância sempre permaneceram em meu pensamento

A minha família japonesa

SR. TOSSAO, D. JULIA, FRANCO, RAFA, SANDRO, MICHELE, SOFIA E THEO

A DEUS & NOSSA SENHORA APARECIDA

Que sempre me protegem, amparam e guiam nos caminhos percorridos nesta vida

DEDICO

A minha noiva

FERNANDA MICHELE SATAKE

Companheira, amiga, meu porto seguro, presente em todos os momentos de minha vida

OFEREÇO

AGRADECIMENTO ESPECIAL

A Profa. Dra.

ISABEL CRISTINA BOLELI

Meu sincero agradecimento e reconhecimento pela orientação, confiança em mim depositada e amizade durante esses anos de convívio

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, especialmente aos Departamentos de Patologia Veterinária e Morfologia e Fisiologia Animal.

Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Júnior, pela orientação, incentivo e seriedade no desenvolvimento deste trabalho.

As Profas. Dras. Julieta Rodini Engracia de Moraes, Ângela Cleusa de Fátima Banzatto de Carvalho, Silvana Martinez Baraldi Artoni e a Dra. Nilce Maria Soares Queiroz Gama pelas correções e sugestões propostas durante a qualificação e defesa deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alberto Cargnelutti Filho pela auxílio nas análises estatísticas.

Aos funcionários D. Cida, Sr. Antônio (laboratório de Ornitopatologia), Sr. Orandi (laboratório de Histologia), Claudinha e Carlos (laboratório de microscopia eletrônica) pela colaboração na execução das análises.

Aos colegas da graduação e da pós-graduação, Fernanda Satake, Aline Mesquita, Alberto Inoue, Dayane Pires, Estela Pereira, Eliane Nakagi , Jacqueline Paiva, Oliveiro Caetano, Rafael Penha Filho, Rafael Ricardi e Viviane Morita pela ajuda nos experimentos e pela convivência.

A Prof. Dra. Maria Imaculada Fonseca, pela amizade, atenção e responsabilidade na minha formação acadêmica.

A Empresa Frango Sertanejo pela as aves.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro em forma de Bolsa de Estudos e Reserva Técnica (Processo 04/12020-7).

Ao Ensino Público Brasileiro.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram com a realização deste trabalho, e que por minha falha, não estão aqui citados, o meu profundo agradecimento.

OBRIGADO

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA 1
INTRODUÇÃO 1
Histórico e caracterização do gênero Salmonella 2
Salmoneloses aviárias 4
Saúde Pública 6
Exclusão competitiva 7
Hematologia aviária 8
Manutenção, desenvolvimento e renovação da mucosa intestinal 11
OBJETIVOS 13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 14

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES E APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS 21
INTRODUÇÃO 23
MATERIAL E MÉTODOS 25
RESULTADOS E DISCUSSÃO 29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 54

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES E APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS 57
INTRODUÇÃO 59
MATERIAL E MÉTODOS 61
RESULTADOS 66
DISCUSSÃO 81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES E APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS 87
INTRODUÇÃO 89
MATERIAL E MÉTODOS 91
RESULTADOS E DISCUSSÃO 95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 119

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis (SE) por grama de conteúdo cecal, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 30

Tabela 2. Interação entre os sexos e tratamentos sobre o número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis (SE) por grama de conteúdo cecal, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 31

Tabela 3. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o peso corporal (g) e do fígado (g) de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias)..... 33

Tabela 4. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o peso da bursa de Fabrício (g) e glicemia (mg/dL) em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 36

Tabela 5. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número de eritrócitos (RBC) em 10^6/µL. e a hemoglobina (HGB) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias)..... 39

Tabela 6. Efeitos dos sexos e sobre o hematócrito (HCT) em % e o volume corpuscular médio (VCM) em µm^3, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias)..... 40

Tabela 7. Interação entre os sexos e tratamentos sobre o número de eritrócitos (RBC) em 10^6/µL e a hemoglobina (HGB) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 41

Tabela 8. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre a hemoglobina corpuscular média (HCM) em pg e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 43

Tabela 9. Efeitos do sexo e tratamentos sobre a contagem total de leucócitos (LEU, 10^3/µL) e o percentual de linfócitos, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 45

Tabela 10. Efeitos do sexo e tratamentos sobre o percentual de heterófilos e de basófilos, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 48

Tabela 11. Interação entre sexos e tratamentos sobre a contagem total de leucócitos (LEU) em 10^3/µL e os percentuais de linfócitos e heterófilo, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (DPI) (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 49

Tabela 12. Efeitos dos sexos e tratamentos nos quatro dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias) sobre o percentual de eosinófilos e monócitos..... 53

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o a porcentagem de vilos normais da mucosa do duodeno, jejuno e íleo em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias)..... 68

Tabela 2. Interação entre sexos e tratamentos para o número de vilos por área e porcentagem de vilos normais da mucosa do duodeno, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção..... 69

Tabela 3. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004), no duodeno de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 72

Tabela 4. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no duodeno de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 73

Tabela 5. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no jejuno de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 75

Tabela 6. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no duodeno de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com

os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 76

Tabela 7. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no íleo de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 78

Tabela 8. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no duodeno de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE)..... 79

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número de vilos por área da mucosa do duodeno, jejuno e íleo em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias)..... 98

Tabela 2. Interação entre sexos e tratamentos para o número de vilos por área da mucosa do duodeno e íleo, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção..... 99

Tabela 3. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidade de cripta (μm) do epitélio do duodeno de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 116

Tabela 4. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidadede cripta (μm) do epitélio do jejuno de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 117

Tabela 5. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidade de cripta (μm) do epitélio do íleo de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias)..... 118

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

Figura 1. A – F: Graus de perda de epitélio em vilos intestinais de pintos. A: graus 0 e 1, B: grau 2, C: grau 3, D: grau 4, E: grau 5 e F: grau 6. Barras: A, C, D e F = 50μm; B = 10μm; F = 100μm (GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004).....64

CAPÍTULO 4

Figura 1. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE. 100

Figura 2. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE. 101

Figura 3. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE. 102

Figura 4. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE. 103

Figura 5: Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 104

Figura 6. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 105

Figura 7. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e

infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE 106

Figura 8. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 107

Figura 9. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 108

Figura 10. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 109

Figura 11. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 110

Figura 12. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE..... 111

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO INTESTINO E HEMATOLÓGICA DE AVES DE CORTE (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS E SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA

RESUMO – O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar os pesos corporal (PC), do fígado (PF) e da bursa de Fabrício (PB), o perfil hematológico (eritrograma, leucograma e glicemia), a integridade e o desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte de submetidos ao tratamento por exclusão competitiva (EC) antes e após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis (SE). Foram utilizados 128 pintos, distribuídos num delineamento ao acaso com esquema fatorial 2 x 4 [2 sexos e 4 tratamentos (NI: não infectados com SE; I: infectados com SE; IEC: infectados com SE e tratados com EC 24 h após infecção; ECI: tratados com EC e infectados com SE 24 h após tratamento)]. Os animais foram sacrificados com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção (dpi) para obtenção do conteúdo cecal (microbiológico), fígado, bursa de Fabrício e fragmentos do intestino delgado. Os dados demonstram que o uso de EC após infecção não evita a colonização cecal por SE, mas que a mesma é evitada quando a EC é realizada antes da infecção. A partir do 7º dpi as aves infectadas apresentaram os menores valores de PC e PB, e não se evidenciou diferenças na glicemia e no PF. As alterações do eritrograma ficaram restritas aos três primeiros dpi e os resultados do leucograma mostraram uma resposta sexo-específica frente à infecção por SE. Em relação à integridade, o presente trabalho mostrou que os vilos do intestino delgado dos pintos de corte apresentam um grande processo de renovação celular ao final da primeira semana de vida e que EC acelera este processo. O desenvolvimento intestinal variou de acordo com o segmento, o sexo, o tratamento e a idade analisada**.**

Palavras-Chave: *Salmonella* Enteritidis, exclusão competitiva, hematologia, integridade, desenvolvimento, intestino, aves.

MORPHOLOGIC INTESTINE EVALUATION AND HEMATOLOGY OF BROILERS CHICKENS (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *SALMONELLA* ENTERITIDIS AND SUBMITTED TO COMPETITIVE EXCLUSION TREATMENT

SUMMARY - The present experiment was carried out with the objective to evaluate the weights corporal (WC), of the liver (WF) and bursa of Fabrício (WB), the hematology profile (erytrogram, leucogram and glycemia), the integrity and the development of the intestinal mucosa by young chickens submitted to competitive exclusion treatment (CE) before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis (SE). 128 young chickens, distributed in completely randomized design in 4 x 2 factorial arrangement [had been used 2 sex and 4 treatments (NI: not infection with SE - Control; I: infection with SE; ICE: infection with SE and treated with CE 24 h after infection; CEI: treated with CE and infection with SE 24 h after treatment)]. The animals had been sacrificed with 1, 3, 5 and 7 days post infection (dpi) for attainment of the cecal content (microbiological), liver, bursa of Fabrício and fragments of the thin intestine. The data demonstrate that the CE use after infection does not prevent the cecal settling for SE, but that the same one is prevented when the CE is carried through before the infection. From 7º dpi the infections birds had presented the lesser values of WC and WB, and it did not prove differences in the glycemia and the WF. The alterations of the erytrogram had been restricted to three first dpi, and the results of the leucogram had shown to a sex-specific reply front to the infection for SE. In relation to the integrity, the present work showed that the vilos of the thin intestine of young chickens present a great process of cellular renewal to the end of the first week of life and that CE speeds up this process. The intestinal development in accordance with varied the segment, the sex, the treatment and the analyzed age.

Key-words: *Salmonella* Enteritidis, competitive exclusion, hematology, integrity, development, intestine, chickens.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O desenvolvimento da avicultura brasileira moderna foi possível graças a um conjunto de fatores, dentre eles, uma nutrição balanceada, seleção genética de linhagens e da utilização de rigorosos programas sanitários em granjas.

Todavia, no que diz respeito à sanidade, o retardamento da aquisição da microflora intestinal normal, provocado pelo rigoroso programa sanitário, tornou os pintos mais susceptíveis a enfermidades entéricas. As infecções por salmonelas são um dos maiores entraves econômicos, pois afetam o bem estar animal e o nível de produção acarretando anualmente grandes prejuízos à indústria avícola.

Segundo MACARI & MAIORKA (2000), as técnicas de manejo para a melhoria do desempenho do frango estão na dependência do entendimento do funcionamento dos sistemas orgânicos, pois, através da manutenção da homeostase, o custo energético de mantença pode ser reduzido e aumentar a produção. Neste contexto, a avaliação dos parâmetros hematológicos das aves se faz necessária para melhor caracterização da resposta da ave ao processo infeccioso, representando uma ferramenta importante e auxiliar de diagnóstico na medicina veterinária como o é na medicina humana. No entanto, análises de sangue têm sido uma prática pouco freqüente em aves (STOSKOPF *et al*., 1983).

As enfermidades entéricas têm sido controladas pelo uso de anti-microbianos como coccidiostáticos, os promotores de crescimento anti-microbianos e medicamentos específicos. Todavia, a crescente preocupação dos consumidores com a possível transmissão da resistência antibiótica a patógenos causadores de doenças humana tem levado a Comunidade Européia a proibir o uso da maioria dos promotores de crescimento anti-microbianos e restringir o uso de medicamentos. Sendo assim, se faz necessário o desenvolvimento de produtos ou formas de controle alternativo que possam prevenir de forma eficaz as enfermidades entéricas ou minimizar os efeitos adversos das mesmas sobre o bem estar animal e sobre a produção.

Uma das medidas importantes a serem tomadas, principalmente no que se refere às salmonelas, é manter a integridade do trato gastrintestinal das aves. Vários métodos têm sido testados a fim de combater ou controlar a colonização do trato intestinal por salmonelas. Um deles, e que vem mostrando-se eficaz durante anos, é o método da Exclusão Competitiva (EC) ou Conceito de "Nurmi". Ele consiste na administração oral de microbiota intestinal de aves adultas em aves recém eclodidas, com o objetivo de acelerar a colonização intestinal por microrganismos benéficos, evitando a infecção por bactérias indesejáveis (NURMI & RANTALA, 1973).

Segundo SPENCER & GARCIA (1995), em aves de exploração comercial, a microbiota normal é adquirida durante as primeiras 6 semanas de vida e a proteção das aves jovens contra a colonização por salmonelas parece ser resultado direto da colonização do epitélio intestinal por uma microbiota bacteriana protetora. De acordo com OLIVEIRA *et al*. (2000), o tratamento com microbiota intestinal de aves adultas mostrou-se eficiente no controle da transmissão por contato do paratifo aviário em pintos. Dado similar também foi observado por STERZO *et al*. (2005), os quais, utilizando uma suspensão de cultura fecal de aves adultas, registraram inibição da colonização do trato gastrintestinal de pintos de um dia por *Salmonella* Enteritidis

Histórico e caracterização do gênero *Salmonella*

As primeiras bactérias do gênero *Salmonella* foram identificadas em fins do século passado. *Salmonella typhy*, a primeira a ser reconhecida como patógeno, foi encontrada em baço e linfonodos de seres humanos em 1880, porém seu isolamento e descrição morfológica só foram feitos por Gaffky, em 1884 (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Em 1885, Salmon e Smith isolaram um bacilo de suínos doentes, ao qual denominaram *Bacterium suipestifer*, considerando-o erroneamente o agente da peste suína. Esta bactéria foi denominada posteriormente *Salmonella cholerasuis*.

Em 1888, houve registro de *Salmonella enteritidis* por Gaetner e em 1892 Loefer isolou a *S. typhimurium* (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Em 1889, na Inglaterra, Klein identificou o tifo aviário em aves adultas, demonstrando sua etiologia bacteriana. Rettger, em 1899, descreveu a pulorose, diferenciando-a da enfermidade anterior. Jones, em 1913, aplicou a prova de aglutinação para identificação de portadores de *Salmonella pullorum* (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

No início do século XX, a caracterização das bactérias deste gênero ainda era confusa.

A partir de 1925, com a utilização de métodos sorológicos, iniciaram-se os esclarecimentos sobre a classificação do gênero *Salmonella*, criada por Lignières em 1900 em homenagem a Salmon. Foram incluídos no gênero, *Salmonella typhimurium* denominada por Loeffler (1892), *Salmonella paratyphi* por Schottimuller (1899). Posteriormente foram sendo descritos vários sorotipos de *Salmonella*, classificados de acordo com a terminologia de White (1929), atingindo aproximadamente 900 sorotipos (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Na classificação apresentada pelo Manual Bergey, todos os sorotipos de *Salmonella* pertencem a duas espécies: *Salmonella bongori*, que contém menos de 10 sorotipos extremamente raros, e *Salmonella cholerasuis,* com 2500 sorotipos que dividem-se fenotípica e genotipicamente em seis subespécies (HOLT *et al.,* 1994; GAST, 1997).

Atualmente POPOFF *et al*. (1996) apresentaram uma proposta de reclassificação do gênero *Salmonella*, que passaria a apresentar duas espécies: *Salmonella enterica* com seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *houtenae* e *indica*) e *Salmonella bongori*. Assim a designação de *Salmonella typhimurium* passaria a ser *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium ou de forma simplificada *Salmonella* Typhimurium.

As salmonelas são microorganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. A taxonomia do gênero por muito tempo permaneceu confusa, onde os conceitos sorotipo e espécie confundiam-se. Por definição, os organismos do gênero *Salmonella* são bastonetes curtos (0,7 - 1,5µ/ 2,0 - 5,0µ),

gram-negativos, móveis com flagelos petríquios, sendo alguns imóveis. São aeróbios e facultativamente anaeróbios, catalase positiva, oxidase negativa, fermentam açúcares com produção de gás, são produtores de H_2S. As salmonelas possuem uma complexa constituição antigênica (antígeno somático "O", flagelar "H", capsular "K") (HOLT *et al*., 1994; GAST, 1997).

A maior parte das culturas de *Salmonella sp* crescem em meio contendo citrato. Em meios comuns com nutrientes podem ser confundidos com coliformes.

A detecção deve ser feita através da sua pesquisa em órgãos de eleição, como o fígado, baço e ceco. As amostras podem ser plaqueadas diretamente em meios sólidos, seletivos para enterobactérias ou passar por processo de enriquecimento em caldos seletivos (Selenito, Tetrationato, Rappaport-Vassiliadis) (HOLT *et al.,* 1994; GAST, 1997).

As salmonelas são mortas pelo calor, 55º por 1 hora ou 60º durante 15 a 20 minutos. A resistência a antibióticos começou a ser observada em 1958 por HUEY & EDWARDS, que estudaram amostras de *Salmonella* resistentes as tetraciclinas. Logo após, em 1962, cepas de Salmonella typhimurium mostraram-se resistentes a ampicilina, estreptomicina e sulfonamidas (HOLT *et al*., 1994; GAST, 1997).

Salmoneloses aviárias

As salmoneloses aviárias são enfermidades provocadas por bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes da família *Enterobacteriaceae*. Essas bactérias infectam as aves e podem causar três enfermidades distintas: a pulorose, cujo agente é *Salmonella* Pullorum; o tifo aviário, causado pela *Salmonella* Gallinarum; e o paratifo aviário, causado por salmonelas não espécie específicas. (BERCHIERI JR. 2000).

São conhecidos mais de 2500 sorotipos de Salmonella, contudo cerca de 80 a 90 são os mais comuns em casos de infecções em seres humanos e em animais. Dentre as salmonelas paratíficas, as mais comuns são: *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Heidelberg,

Salmonella Montevideo, *Salmonella* Senftenberg e *Salmonella* SaintPaul (BERCHIERI JR., 2000).

Em relação à saúde animal, para que haja o aparecimento da salmonelose aviária é necessária integração de alguns fatores, que envolvem tanto o lado do hospedeiro quanto do agente infectante. As salmonelas paratíficas podem causar doença em aves, nos primeiros dias de vida e o quadro é passível de confusão com a pulorose.

O mecanismo de patogenicidade de *Salmonella* tem sido associado ao lipopolissacarídeo de membrana (LPS). O LPS é o responsável pela interação com os macrófagos, sensibilidade ao complemento, pelo decréscimo da susceptibilidade aos peptídeos catiônicos e apresenta ação endotóxica, ou seja, provoca reações tóxicas no hospedeiro (COOPER, 1994).

A presença do plasmídeo contribui para aumentar o período de sobrevivência da bactéria no Sistema Retículo Endotelial do hospedeiro. Tem ainda sido atribuído aos membros do gênero *Salmonella* dois outros fatores de virulência, que seriam uma toxina termolábil similar à toxina do *Vibrio cholerae* e uma citotoxina localizada na membrana celular da bactéria (COOPER, 1994).

Os sinais da doença nas aves são mortalidade no período final da incubação, onfalite, desuniformidade do lote e diarréia. Em aves adultas, raramente se observam os sinais clínicos, mas pode haver queda na produção devido a alterações de ovário e de oviduto, que se apresentam atrofiados ou com folículos irregulares, hemorrágicos e necróticos (BLAXLAND *et al*., 1982; GAST, 1994; BERCHIERI JR., 2000).

A severidade da enfermidade depende da virulência da cepa, estado geral da ave, condições de estresse e utilização de medicamentos. Usualmente, as aves jovens são mais susceptíveis às enfermidades paratíficas, onde a mortalidade e morbidade ocorrem durante as duas primeiras semanas de vida, portanto podendo ocasionar retardo no crescimento (MEAD & IMPEY, 1987; HINTON JR. *et al*., 1990; GAST, 1997).

A transmissão vertical ocorre quando o ovo de uma galinha infectada, contamina-se ao longo do aparelho reprodutor ou da cloaca, neste último caso por contato com as fezes.

Ovos infectados incubados são responsáveis por decréscimo na curva de nascimento de pintos, provocam o paratifo aviário entre as aves recém eclodidas disseminado, a partir daí, a bactéria entre as aves da granja (GAST, 1997; BERCHIERI JR., 2000).

Saúde Pública

O paratifo aviário é causado por salmonelas paratifícas, que podem infectar vários tipos de hospedeiros. Pesquisas em países industrializados (Inglaterra, Estados Unidos da América e Canadá) têm mostrado uma maior ocorrência de *Salmonella* Enteritidis nos últimos anos (GAST & BEARD, 1990; BARROW, 1993). Estas pesquisas corroboram as de TAUNAY *et al.* (1996), que observaram que a partir da década de noventa, no Brasil, a *Salmonella* Enteritidis passou a ser o sorotipo mais identificado nos casos de toxinfecção alimentar em seres humanos, sendo que antes a *Salmonella* Typhimurium era a que mais prevalecia nos estudos relacionados aos produtos de origem animal destinados ao consumo humano.

Estudos realizados na Escócia e nos Estados Unidos da América, em meados da década de 70 e 80, mostraram, respectivamente, que 84 e 51% dos casos de toxinfecção alimentar em humanos era devido a bactérias do gênero *Salmonella* (GAST 1997).

Em relação à saúde pública, há registros de aquisição de *Salmonella* via alimentar em seres humanos desde o século XIX, quando a contaminação ocorreu pela ingestão de carne bovina contaminada (BARROW, 1993).

Segundo GAST (1994), a salmonela como um problema de saúde pública, está muito associado à ingestão de carnes de aves contaminadas ou indevidamente preparadas e ao consumo de ovos crus, também contaminados. Entre 1985 a 1991, nos Estados Unidos da América, 82% dos sorotipos de

Salmonella Enteritidis isolados de alimentos estavam relacionados a ovos para consumo (GAST, 1997).

Segundo ROBERTS & SOCKETT (1994), o impacto econômico causado pela *Salmonella* Enteritidis não atinge somente a indústria avícola, mas também a economia dos países. Em 1993, nos Estados Unidos, estima-se que foram gastos cerca de 3,5 milhões de dólares decorrentes de gastos médicos. Esses fatores tornam necessárias e urgentes a realização de investimentos em biossegurança e programas de controle da doença (GAST, 1997).

Exclusão competitiva

Como já mencionado, atualmente, a indústria avícola é provida de um sistema de higiene e desinfecção bastante eficiente, principalmente nos incubatórios, o que torna o ambiente onde nascem as aves praticamente estéril. Desse modo, a colonização do trato digestório das aves demora mais tempo, deixando-as expostas a microrganismos indesejáveis nos primeiros dias de vida (FOWLER & MEAD, 1989).

Em condições naturais, aves jovens obtêm sua microbiota intestinal por contato direto com a mãe e com o meio ambiente. Segundo SAVAGE (1987) e MILES (1993), os microrganismos que primeiro se estabelecem, na maioria dos casos, são aqueles que colonizam e persistem durante toda a vida do animal. Assim, a colonização ocorre nas primeiras horas após o nascimento, desenvolvendo-se rapidamente e formando uma barreira de defesa, prevenindo o estabelecimento e multiplicação das bactérias patogênicas, como as do gênero *Salmonella* (FOWLER & MEAD, 1989; OLIVEIRA *et al*., 2000).

MILES (1993) relata que a população microbiana normal do trato intestinal age no hospedeiro como uma barreira de defesa, através da criação de um meio ambiente nocivo aos microrganismos patogênicos. Essa população microbiana normal, formada por microrganismos protetores, é adquirida durante as seis primeiras semanas de vida por aves de exploração comercial.

A prática moderna de criação industrial favorece a transmissão vertical e horizontal de patógenos como *Salmonella,* em plantéis avícolas (COX *et al*.,1990). Métodos alternativos como o da exclusão competitiva vem sendo investigado visando prevenir as infecções por Salmonelas paratíficas (NURMI *et al*.,1992).

A exclusão competitiva (EC) ou conceito de Nurmi consiste na administração de microbiota intestinal de aves adultas em aves recém eclodidas no intuito de acelerar a colonização intestinal por microrganismos benéficos, excluindo aqueles indesejáveis (NURMI & RANTALA, 1973). O mecanismo de exclusão competitiva ainda não está elucidado, mas sabe-se que a proteção das aves por meio de EC é efetiva contra uma série de sorotipos de *Salmonella*, incluindo aqueles que podem causar mortalidade em aves muito jovens e também toxinfecção alimentar em seres humanos (LLOYD *et al*., 1997).

CORRIER *et al.* (1994) e RAMBOUSEK *et al.* (1995) relataram a eficiência da EC para impedir a colonização intestinal de pintos por Salmonelas paratíficas, entre as quais a *Salmonella* Enteritidis.

Na Suécia, em 1981, o uso do método de exclusão competitiva em aves foi adotado como parte do programa nacional de controle de *Salmonella*. WIERUP *et al*. (1992), observaram em vários anos de estudos, feitos a campo, que menos de 1% dos frangos, depois do abate, apresentaram *Salmonella*, após a adoção da EC.

Hematologia aviária

Paralelamente ao crescimento da atividade avícola, ocorreu grande desenvolvimento dos métodos de diagnósticos e de profilaxia das doenças aviárias. Entretanto, aspectos básicos relacionados à fisiologia e avaliações clínico laboratoriais foram pouco estudados. Em diversas enfermidades avícolas, observam- se alterações nos parâmetros hematológicos (KOHAYAGANA *et. al.*, 2001). Dessa forma, o emprego da hematologia e da química sanguínea é representativo para estabelecer um diagnóstico definitivo, permitindo orientar e

aprofundar a natureza de diversas situações fisiopatológicas que afetam as aves (CHARLES NORIEGA, 2000).

O sistema imunológico das aves opera de acordo com os mesmos princípios do sistema imunológico dos mamíferos (SHARMA, 1984). Os monócitos, macrófagos, heterófilos e linfócitos constituem os componentes celulares das respostas imunológicas nas aves (ELSBACH, 1980; POWELL, 1987; MORGULIS, 2002).

Nas aves, os trombócitos são células bastante importantes na resistência imunológica inespecífica, já que estão circulando em grande número no sangue (GRECCHI *et al.*, 1980; MORGULIS, 2002). Eles possuem função semelhante à das plaquetas nos mamíferos no processo da coagulação sanguínea, mas sua principal característica é que são células altamente fagocíticas (CAMPBELL & DEIN, 1984; CHARLES NORIEGA, 2000), apresentam capacidade de aderir e de fagocitar inúmeras partículas estranhas (GRECCHI *et al.*, 1980). A capacidade fagocitária dos trombócitos depende da idade das aves, é de 2 a 3 vezes mais rápida que no caso dos heterófilos e dos monócitos, podendo fagocitar 1,7 vezes mais bactérias que estas células (CHARLES NORIEGA, 2000).

O hemograma consta de uma série de provas que possibilitam detectar anormalidades que se apresentam em certos fenômenos fisiopatológicos importantes nos animais e nos homens e que se refletem no sangue (CHARLES NORIEGA, 2000).

O hematócrito permite avaliar a parte globular em uma amostra de sangue. Baixo índice de hematócrito pode ser observado em doenças agudas ou crônicas, septicemias e doenças hemorrágicas (CAMPBELL & DEIN, 1984). Os valores normais do hematócrito nas aves variam de acordo com a idade (CHARLES NORIEGA, 2000).

As proteínas plasmáticas do sangue são formadas por albumina, globulinas alfa, beta, gama e fibrinogênio e a maioria destas são sintetizadas no fígado. Estas equivalem a 20% do sangue, são nutrientes essenciais para a vida, entre suas funções estão a de manter a pressão osmótica, serem reguladoras do mecanismo ácido-base do sangue, serem transportadoras de hormônios e

formarem parte importante das enzimas e imunoglobulinas. A quantificação é utilizada para detectar processos inflamatórios graves (CHARLES NORIEGA, 2000).

Os caminhos iniciais da coagulação sanguínea nas aves e mamíferos diferem-se consideravelmente (STURKIE, 1976; HODGES, 1977). Sendo a coagulação sanguínea (CHARLES NORIEGA, 2000) e a maturação das hemácias é muito mais rápida nas aves (STURKIE, 1976).

A hemoglobina, intervém no transporte de CO_2 desde os tecidos até os alvéolos pulmonares, mantendo desta maneira o pH do sangue e a entrada de oxigênio nas células. A concentração da hemoglobina é importante para determinar a capacidade de oxigenação tissular que prevalece nos seres vivos (CHARLES NORIEGA, 2000) e também para classificar um processo anêmico (STURKIE , 1976).

Os índices de Wintrobe (WINTROBE, 1933): hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM) detectam a presença de anemia e avaliam a capacidade que a medula óssea tem de produzir hemácias de tamanho e capacidade metabólica normais, assim como o conteúdo de hemoglobina.

O tempo de vida das hemácias varia entre as espécies de aves domésticas. Nas galinhas, ele é em torno de 28 a 35 dias (STURKIE, 1976) e nos mamíferos é de 120. A curta vida das hemácias nas aves atribuiu-se a seu elevado metabolismo e a temperatura corporal de 41º C. Nas aves, as hemácias são ovais e nucleadas, medem 7,7 micra de largura e 8,1 a 10 micra de comprimento. A contagem total de hemácias permite realizar uma análise mais pormenorizada com presença ou ausência de anemia ou hemoconcentração (CHARLES NORIEGA, 2000). A anemia nas aves pode ser causada por hemorragia, destruição das hemácias ou diminuição na sua produção. Certas infecções bacterianas como as salmoneloses, podem causar anemia provocada pela destruição de hemácias (CAMPBELL & DEIN, 1984).

O número de hemácias varia entre as diferentes espécies aviárias, idade, sexo, influências hormonais e meio ambiente (HODGES, 1977). CHARLES

NORIEGA (2000) relata que a contagem total de leucócitos é necessária para poder interpretar com maior certeza a natureza de uma infecção viral ou bacteriana quando se associa com a interpretação da contagem diferencial de leucócitos ou também avalia o estado geral de um animal.

A contagem diferencial de leucócitos é de extrema importância para o diagnóstico de doença no homem e também para doenças aviárias (ANDERSON & STEPHENS, 1970), pois estabelece a percentagem e a quantidade de cada tipo de leucócito que se encontra em uma determinada circunstância ou enfermidade na ave. Em conjunto com a contagem total de leucócitos é possível determinar o diagnóstico de um modo mais preciso.

Na maioria das espécies aviárias, a porcentagem de linfócitos é maior que qualquer outro elemento celular, compreendendo entre 40 a 70% da contagem total, sendo os heterófilos o segundo grupo. O contrário observa-se em avestruz e faisão, nos quais os mais abundantes são os heterófilos (CHARLES NORIEGA, 2000).

As leucocitoses geralmente devem-se as heterofilias e suas causas mais comuns são infecções generalizadas que podem ser devido a septicemias causadas por salmonelas (MORGULIS, 2002).

Manutenção, desenvolvimento e renovação da mucosa intestinal

A mucosa intestinal representa uma extensa área de exposição animal a agentes exógenos (patogênicos ou não) e responde pelos processos de digestão, absorção e proteção, o que torna a manutenção de sua integridade morfo-funcional um fator importante para o controle da saúde animal e da manutenção de um alto nível de crescimento.

A manutenção da integridade morfo-funcional da mucosa intestinal está diretamente relacionado com o processo contínuo e dinâmico de renovação do epitélio intestinal. Esse processo envolve dois eventos citológicos: proliferação e diferenciação celular, resultantes das divisões mitóticas sofridas por células indiferenciadas localizadas na cripta e ao logo dos vilos (UNI *et al*, 1998), e perda

de células (extrusão), que ocorre normalmente no ápice dos vilos. As células resultantes das mitoses são impelidas para o vilo, diferenciam-se em um dos três tipos celulares (enterócitos, células neuro-endócrinas e células caliciformes) que formam o epitélio interno do intestino, e quando chegam ao topo do vilo (zona de extrusão) descamam para a luz do intestino. Neste caso, segundo CUNNINGHAN (1992), a população celular do epitélio é mantida em equilíbrio dinâmico, no qual as células geradas nas criptas são equivalentes ao número de células perdidas na zona de descamação.

A mucosa intestinal, entretanto, possui grande plasticidade de resposta adaptativa à presença quantitativa e qualitativa de alimento e de microbiota no trato gastrintestinal, o que pode determinar uma taxa de proliferação e diferenciação celular diferente da taxa de extrusão, promovendo alterações no tamanho dos vilos. Assim, se ocorrer um aumento na taxa de mitose concomitantemente com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá ocorrer um aumento no tamanho dos vilos e até dobramento da parede dos mesmos. Se o estímulo levar a uma aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição da taxa de proliferação, a mucosa intestinal deverá responder com uma redução na altura dos vilos e, conseqüentemente, com uma diminuição em sua capacidade de digestão e absorção.

O maior ou menor desenvolvimento da mucosa intestinal é avaliado por meio de dados morfométricos do tamanho dos vilos, da profundidade das criptas, do número de vilos, altura do epitélio, altura e número de microvilos enterocíticos e integridade da mucosa (perda de epitélio).

No caso de injúrias à mucosa intestinal, o processo de reconstituição inicia-se rapidamente após a lesão (5 a 30 minutos), sendo dependente da secreção de uma espessa camada de muco sobre a área injuriada (MAIORKA *et al*. 2002). Após a perda de grandes áreas na mucosa intestinal, responsável pela absorção de nutrientes, são estimulados mecanismos moleculares de adaptação e reparo da mucosa. O epitélio remanescente torna-se hiperplásico com maior altura de vilo e profundidade de cripta (PORUS, 1965; DOWLING, 1992).

OBJETIVOS

Gerais

Avaliar o efeito do tratamento pelo método de Exclusão Competitiva (EC) antes ou após a infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis sobre os parâmetros hematológicos e morfométricos da mucosa do intestino delgado de pintos de corte, machos e fêmeas, durante a primeira semana de vida.

Específicos

Avaliar o efeito do tratamento pelo método de Exclusão Competitiva (EC) antes ou após a infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis sobre os seguintes parâmetros:

- pesos corporal, do fígado e da bursa de Fabrício;
- perfil hematológico [eritrograma: RBC (Red Blood Cells - Número de eritrócitos), HGB (Hemoglobina), HCT (Hematócrito), VCM (Volume corpuscular médio), HCM (Hemoglobina corpuscular média), CHCM (Concentração de hemoglobina corpuscular média); leucograma: contagem total de leucócitos e contagem diferencial de leucócitos; e glicose plasmática]
- morfometria intestinal: altura de vilo e profundidade de cripta, densidade e integridade dos vilos, e presença de células apoptóticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, E.L. & STEPHENS, J.F. Changes in the differential leukocyte count of chicks inoculated with *Salmonella*. **Applied Microbiology**, v.19, n.5, p.726-730, 1970.

BARROW, P.A. A *Salmonella* control-past, present and future. **Avian Pathology**, v.22, p.651-69,1993.

BARROW, P.A. Salmonella infections in poultry – problems and new thoughts on the possibilities of control. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.1, p.9-16, 1999.

BERCHIERI , JR. A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI, JR. A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas. FACTA, p.185-195, 2000.

BLAXLAND, J.D. Diseases caused by bacteria, micoplasmas and chlamydia. In: Gordon, R.F.; Jordan, F.T.W. (Ed). **Poultry Disease**. 2 ed. London: Bailliere – Tindall, Cap 2, p.9-75, 1982.

CAMPBELL, T.W. & DEIN, F.J. Avian Hematology. The Basics. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v.14, n.2, p.223- 248, 1984.

CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de hematología aviar**: material didático para curso de hematologia aviária. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de produccíon animal: Aves. México, 2000. 70p. (Apostila mimeo).

COOPER, G.L. Salmonellosis infections in man and the chickens: pathogenesis and the development of live vaccines – a review. **Veterinary Buletin**, v. 64, p.123-43, 1994.

CORREA, W.M.; CORREA, C.M. Paratifos em geral. In: **Enfermidades infecciosas de animais domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, p.167-74, 1992.

CORRIER, D.E.; HOLLISTER, A.G.; NISBET, D.J. Competitive exclusion of *Salmonella Enteritidis* in leghorn chicks: comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray or lyophilized alginate beads. **Avian Disease**, v.38, p.297-303, 1994.

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; MAULDIN, J.M.; BLANKENSHIP, L.C. Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry Science**, v.69, p. 1606-1609,1990.

CUNNINGHAN, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Guanabara-Koogan, 450p. 1992.

DOWLING, R.H. Cellular and molecular basis of intestinal and pancreatic adaptation. **Escandinavian Journal of Gastroenterology**, v.27, p.64-67, 1992.

ELSBACH, P. Degradation of microorganisms by phagocytic cells. **Reviews of infectious diseases**, v.2, p.106-128, 1980.

FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. **Patologia clínica veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo e Brasil, 293p. , 1978.

FOWLER, N.G.; MEAD, G.C. Competitive exclusion and *Salmonella* in poultry. **Veterinary Record**, v.11, p.512, 1989.

GAST, R.K.; BEARD, C.W. Production on of *Salmonella* Enteritidis contaminad eggs experimentally infected hens. **Avian Disease**, v.34, p. 438-46, 1990.

GAST, R.K. Understanding *Salmonella* Enteritidis in Laying chickens: the contributions of experimental inections. **International Journal of Food Mirobiology**, v 21, p. 107-16, 1994.

GAST, R..K. *Salmonella* infections. In: CALNEK, B.W. et al. **Diseases of poultry** , 10°ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p.81-121.

GRECCHI, R.; SALIBA, A.M.; MARIANO, M. Morphological changes, surface receptors and phagocytic potential of fowl mononuclear phagocytes and thrombocytes *in vivo* and *in vitro*. **Jounal of Patholology**, v.130, p.23-31, 1980.

HINTON JR.A.; CORRIER, D.EL; SPATES, G.E.; NORMAN, J.O.; ZIPRIN, R.L.; BEIER, R.C.; DELOACH, J.R. Biological control of *Salmonella typhimurium* in young chickens. **Avian Disease**, v.34, p.626-33, 1990.

HODGES, R.D. Normal avian (poultry) haematology. In: ARCHER, R.K. & J EFFCOTT, L.B. (Eds.). **Comparative clinical haematology**. London: Blackwell Scientific Publications, 1977. p.483-517.

HOLT, J.G. **Bergey`s**: Manual of determinate bacteriology. 9.ed. Baltimore: Willians & Willians, 1994. p.187-7.

HUEY, C.R.; EDWARDS, P.R. Resistance of Salmonella typhimurium to tetracyclines. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine**, v.97(3), p.550-551, 1958.

KOHAYAGANA, A.; SAUKAS, T.N.; BORETTI,L.P.;BORSA, A.; KUIBIDA, K. Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial no Estado de São Paulo. **Revista. Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas: FACTA. Conferência

APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. Prêmio José Maria Lamas da Silva, supl. 3, p.82, 2001.

LLOYD, A.B.; CUMMING, R.B.; KENT, R.D. Prevention of *Salmonella* Typhimurium infection in poultry by pre-treatment of chickens and poults withintestinal extracts. **Australian Veterinary Journal**, v.53 p. 82-87, 1997.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais**... Campinas: FACTA, 2000. P. 161-174.

MAIORKA, A. Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2002.

MEAD, G.C.; IMPEY, C.S. The present status of the Nurmi concept for reducing carriage of food- poisoning Salmonellae and other pathogens in live poultry. In: SMALDRES, F.J.M. **Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry;** Langford: Elsevier Science Publishers, 1987. p. 57-77.

MILES, R.D. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tract: natural ways to prevent colonisation by pathogens. In: ALTECH BIOTECNOLOGY in THE FEED INDUSTRY, 1993, Florida. **Procceding...** p.133-50.

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

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **NATURE**, London, v.241, p. 210-1, 1973.

NURMI, E.; NUOTIO, L.; SCHNEITZ, C. The competitive exclusion concept: development and future. **International Journal food Microbiology,** v.15, p.237-40, 1992.

OLIVEIRA, G.H.; BERCHIERI, JR. A.; BARROW, P.A. Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adults birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p.116-120, 2000.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMUHL, J.; HICKMAN – BRENNER, F.W. Kauffmann – white seheme. **Research Microbiology**, v.147, n. 39, p.756-9, 1996. Supplement.

PORUS, R.L. Epithelial hyperplasia following massive small bowel resection in men. **Gastroenterology**, v.48, p.753-757, 1965.

POWELL, P.C. Immune mechanisms in infections of poultry. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.15, p.87-113, 1987.

RAMBOUSEK, M.J.; IBA, A.M.; STACHISSINI, A.V.; BERCHIERI JR, A. The effect of carbohydrate administration on experimental infection with Salmonella serotypes in chickens. **Revista de Microbiologia**, v.26, p.32-36, 1995.

ROBERTS, J.A.; SOCKETT, P.N. The socio-economic impact of human *Salmonella* Enteritidis infection. **International Journal of Food Mirobiology**, v 21, p. 117-29, 1994.

SAVAGE, D.C. Factors influencing biocontrol of bacterial pathogens in the intestine. **Food Technology**, v.41, p.82-87, 1987.

SHARMA, J.M. Effected of infectious bursal disease virus on protection against Marek's disease by turkey herpesvirus vaccine. **Avian Disease**, v.28, p.629-640, 1984.

SPENCER, J.L.; GARCIA, M.M. Resistence of chicksand poults fed vermicompost to ceacal colonization by *Salmonella*. **Avian Pathology**, v 24, p.157-70, 1995.

STERZO, E.V.; PENHA FILHO, R.A.C. ; PAIVA, J.B.; BERCHIERI JR, A. Time required to protect the intestinal tract of chicks agaisnt Salmonella enterica serovar Enteritidis using competitive exclusion. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas-SP, v. 7, n. 2, p. 119-122, 2005.

STOSKOPF, M.K.; NEELY, E. & MANGOLD, B. Avian hematology in clinical practice. **Modern Vet Practice**, v.64, p. 629-632, 1983.

STURKIE , P.D. Blood: physical characteristics, formed elements, hemoglobin, and coagulation. In: STURKIE , P.D. (ED.). **Avianphysiology.** New York: Springer-Verlag, 1976. p.53-75.

TAUNAY, A.E.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G; IRINO, K. The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.38, n.2, p. 119-127, 1996.

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

WIERUP, R. W., WAHLTROW, H., ENGSTROM, B. Experience of 10 years of exclusion treatement as a part of the *Salmonella* control programme in Sweden. **International Journal food Microbiology**, v.15, n. ¾, p. 287-91, 1992.

WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of eritrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematoogy**, Leipzig, v.51, p.31, 1933.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES OU APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Avaliação hematológica de pintos de corte de ambos os sexos submetidos ao tratamento por exclusão competitiva antes ou após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis

RESUMO – O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar os pesos corporal (PC), do fígado (PF) e da bursa de Fabrício (PB), e o perfil hematológico (eritrograma, leucograma e glicemia) de pintos de corte submetidos ao tratamento por exclusão competitiva (EC) antes e após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis (SE). Foram utilizados 128 pintos, distribuídos num delineamento ao acaso com esquema fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos e 4 o número de tratamentos (NI: não infectados com SE - Controle; I: infectados com SE; IEC: infectados com SE e tratados com EC 24 h após infecção; ECI: tratados com EC e infectados com SE 24 h após tratamento). Os animais foram sacrificados com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção (dpi) para obtenção do conteúdo cecal (microbiológico), fígado e bursa de Fabrício. O sangue foi obtido anteriormente ao sacrifício, por meio de punção intracardíaca. Os dados demonstram que o uso de EC após infecção não evita a colonização cecal por SE, mas que a mesma é evitada quando a EC é realizada antes da infecção. A partir do 7º dpi as aves infectadas (I e IEC) apresentaram os menores valores de PC e PB, entretanto não se evidenciou alterações significativas na glicemia e no PF. As alterações do eritrograma ficaram restritas aos três primeiros dias pós-infecção, indicando que o quadro em questão é uma reação temporária. Os resultados do leucograma mostraram a existência de resposta sexo-específica frente à infecção por SE.

Palavras-Chave:*Salmonella* Enteritidis, Exclusão Competitiva, Hematologia, Aves.

CHAPTER 2 – HEMATOLOGY EVALUATION OF YOUNG CHICKENS FROM BOTH SEXES SUBMITTED TO COMPETITIVE EXCLUSION TREATMENT BEFORE AND AFTER EXPERIMENTAL INFECTION WITH *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Hematology evaluation of young chickens from both sexes submitted to the treatment for competitive exclusion before and after experimental infection for *Salmonella* Enteritidis

SUMMARY - The present experiment was carried out with the objective to evaluate corporal weight (WC), liver weight (WF) and bursa of Fabrício weight (WB), and the hematology profile (erytrogram, leucogram and glycemia) of young chickens submitted to competitive exclusion treatment (CE) before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis (SE). 128 young chickens, distributed in completely randomized design in 4 x 2 factorial arrangement, where 2 are the number of sex and 4 the number of treatments (NI: not infection with SE - Control; I: infection with SE; ICE: infection with SE and treated with CE 24 h after infection; CEI: treated with CE and infection with SE 24 h after treatment).The animals had been sacrificed with 1, 3, 5 and 7 days post infection (dpi) for attainment of the cecal content (microbiological), liver and bursa of Fabricio. The blood was gotten previously to the sacrifice, by means of intracardiac puncture. The data demonstrate that the CE use after infection does not prevent the cecal settling for SE, but that the same one is prevented when the CE is carried out before the infection. From 7º dpi the infections birds (treatment I and IEC) had presented the lesser values of WC and WB, however did not prove significant alterations in the glycemia and the WF. The alterations of the erytrogram had been restricted to the three first days after-infection, indicating that the picture in question is a temporary reaction. The results of the leucogram had after shown to the existence of sex-specific reply front to the infection for SE.

Key-words: *Salmonella* Enteritidis, Competitive Exclusion, Hematology, Chickens

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da indústria avícola, cresceram também as doenças que acometem as aves, como a salmonelose. As salmonelas paratifóides podem não causar doença clínica em aves, mas deixam-nas como portadoras, eliminando as bactérias nas fezes por longos períodos, e contaminando assim os aviários e abatedouros.

A suscetibilidade das aves à colonização intestinal por *Salmonella spp*. é maior durante os primeiros dias de vida, sendo posteriormente reduzida, na medida em que há o desenvolvimento da microbiota intestinal normal. Esta proteção exercida pela microbiota é denominada exclusão competitiva (EC). Define-se EC como o conjunto de fatores exercido e/ou estimulado por bactéria intestinal benéfica, que iniba, de alguma forma, a instalação e/ou multiplicação de bactéria patogênica. Os fatores de inibição da EC podem ser por meio da competição por nutrientes e sítios de ligação, estimulação do sistema imune celular e humoral, e produção de bacteriocinas, dentre outros (ANDREATTI FILHO *et al.,* 2000).

Paralelamente ao crescimento da atividade avícola, ocorreu grande desenvolvimento dos métodos de diagnósticos e de profilaxia das doenças aviárias. Entretanto, aspectos básicos relacionados à fisiologia e avaliações clínico laboratoriais foram pouco estudados. Em diversas enfermidades avícolas, observam- se alterações nos parâmetros hematológicos (KOHAYAGANA *et. al.*, 2001). Dessa forma, o emprego da hematologia e da química sanguínea é representativo para estabelecer um diagnóstico definitivo, permitindo orientar e aprofundar a natureza de diversas situações fisiopatológicas que afetam as aves (CHARLES NORIEGA, 2000).

A hematologia aviária ainda não está bem desenvolvida como a hematologia do homem e demais mamíferos (ANDERSON & STEPHENS, 1970; CAMPBELL & DEIN, 1984). CHARLES NORIEGA (2000) ressalta que as provas hematológicas isoladas nem sempre dão informações suficientes para determinar a natureza e severidade de um quadro clínico, por isso é importante completar o

diagnóstico paralelamente com exames bacteriológico, micológico, virológico, parasitológico ou anatomopatológico.

O objetivo do presente estudo foi analisar o efeito do tratamento com EC antes ou após a infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis sobre os parâmetros hematológicos de pintos de corte durante a primeira semana de vida.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves e Tratamentos

O presente experimento foi realizado entre os meses de junho e julho de 2006 nos Laboratórios de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Veterinária e Histologia/Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

Foram utilizados 128 pintos recém-eclodidos (64 machos e 64 fêmeas) de linhagem de corte (Cobb® 500), provenientes de matrizes com 32 semanas de idade. Inicialmente foram realizados suabes do mecônio das caixas, para confirmar ausência de *Salmonella* Enteritidis*.* O sexo das aves foi confirmado pela análise das gônadas, as quais estão presentes em número par nos machos e ímpar nas fêmeas. As aves foram divididas em 2 grupos, machos e fêmeas, e para cada sexo separadas em 4 outros tratamentos com 4 repetições de 16 aves:

- **NI**: não infectados com *Salmonella* Enteritidis (Controle);
- **I**: infectados com *Salmonella* Enteritidis;
- **IEC:** infectados com *Salmonella* Enteritidis e tratados com exclusão competitiva (EC) 24 h após infecção;
- **ECI**: tratados com EC e infectados com *Salmonella* Enteritidis 24 h após tratamento

Todas as aves foram acondicionadas em caixas de madeira teladas, previamente desinfetadas, em sala climatizada à 33^{o}C. Elas foram alimentadas com água e ração (22% PB, 2.900 Kcal EM/Kg, isenta de antimicrobianos e anticoccidianos) “*ad libitum*”. A cama composta de maravalha foi autoclavada antes do uso.

Os pintos foram analisados quanto a parâmetros sangüíneos com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção, sendo utilizados 4 pintos por grupo, um de cada repetição, considerando-se cada ave uma parcela.

Os animais foram pesados e foi coletado o sangue para a hematologia. Em seguida as aves foram sacrificadas por meio de deslocamento cervical, e durante

a necropsia foi coletado e pesado o fígado e a bursa de Fabricius, foram efetuadas também as coletas de conteúdo cecal, para análise microbiológica.

Bactéria, Inoculação e Contagem de Colônias

Foi utilizado um mutante espontâneo de *Salmonella* Enteritidis, resistente ao ácido nalidíxico e a espectinomicina (SE NalSpec), mantido pelo Laboratório de Ornitopatologia da FCAV-Unesp de Jaboticabal.

A cultura e o inóculo foram preparados seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000), como segue: a cultura foi preparada em caldo nutriente (OXOID CM 67) e incubada sob agitação (100 movimentos/minuto) a 37°C durante 24 horas. O inóculo foi preparado a partir desta cultura (1,2 x 10^9 células viáveis por mL de cultivo), diluindo-se 1mL de cultura (1:1000) em caldo nutriente. Foi realizada administração esofágica de 100 µL de SE NalSpec por ave, utilizando-se uma cânula. Para contagem de *Salmonella* seguiu o modelo empregado por BARROW *et al*. (1987), como descrito a seguir: colheu-se o conteúdo cecal, que foi diluído a 1:10 em solução salina tamponada (PBS pH 7,4). Em seguida, 0,1mL desta suspensão foi submetida a 5 diluições decimais seriadas (até 1:10^6). Foi plaqueado 0,1ml de cada uma das diluições em ágar verde brilhante contendo ácido nalidíxico (100µg/mL) e espectinomicina (100µg/mL). A contagem das colônias foi realizada após 24 horas de incubação a 37°C e os dados foram expressos como número de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de conteúdo cecal. Estes valores foram transformados em $\log_{10}$ para análise e interpretação dos resultados. Contagens (log10) inferiores a 2 UFC de SE foram indicativas de ausência da bactéria.

Exclusão Competitiva (EC)

Foi efetuada seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000). Uma suspensão de cultura fecal foi obtida misturando-se fezes frescas de aves adultas saudáveis com caldo nutriente (1:10 Peso/Volume). A mistura foi mantida em estufa a 37°C por 24 horas, para crescimento da microbiota intestinal. Em

seguida, 0,1 mL da parte líquida foi inoculada endoesofagicamente, de forma similar à descrita no item anterior.

Parâmetros Hematológicos

Coleta de Sangue

O sangue foi coletado por punção intracardíaca, com auxílio de uma seringa contendo anticoagulante (EDTA acrescido de Fluoreto de Potássio).

Eritrograma e Leucograma

A determinação do hematócrito foi realizada através do método do microhematócrito, utilizando-se tubo capilar centrifugado a 1.200g por 5 minutos, sendo o resultado expresso em porcentagem. A concentração de hemoglobina (g/dL) foi medida através da técnica de cianometahemoglobina. Para a contagem de eritrócitos e leucócitos, utilizou-se uma amostra de sangue e a solução de NATT & HERRICK (1952), em uma diluição de 1:100, realizando-se a contagem (n/µL de sangue) em câmara 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 leucocitária, preparou-se esfregaço sanguíneo corados com Panótico Rápido LaborClin®. A contagem leucocitária foi classificatória para linfócitos, heterófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos, calculando-se a proporção de cada tipo em 100 células contadas.

Concentração de Glicose

O sangue foi centrifugado e o plasma sangüíneo utilizado para a dosagem de concentração de glicose plasmática, para a qual foi utilizado o Kit Glicose PAP, 500mL (Labtest). Foram realizadas 2 leituras por ave.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) disposto em um arranjo fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos (machos e fêmeas) e 4 o número de tratamentos (NI: Não infectado, I: Infectado por SE, IEC: Infectado por SE e tratado com EC e ECI: tratado com EC e infectado por SE).

Analise estatística

Os dados referentes á microbiologia, peso corporal, peso do fígado e peso da bursa de Fabrícius e parâmetros hematológicos foram submetidos, a cada dia pós-infecção, à análise de variância (ANOVA), sendo cada ave considerada como uma parcela. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis (SE) por grama de conteúdo cecal (UFC de SE)

Na tabela 1 estão os dados referentes ao número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis por grama de conteúdo cecal (UFC de SE).

Não houve efeito do sexo em nenhuma das idades analisadas. Todavia, os efeitos dos tratamentos foram significativos ($p<0,05$) no 1º, 3º, 5º e 7º dias pós-infecção. Nestas idades, as aves dos tratamentos NI e ECI apresentaram contagens de UFC de SE similares entre si e significativamente inferiores ($p<0,05$) aos dos tratamentos I e IEC, os quais não diferiram entre si quanto às contagens. Estes dados mostraram que o tratamento com EC após a infecção (IEC) não eliminou a bactéria do intestino dos pintos, em nenhum dos sexos, mas que a utilização da EC antes da infecção foi eficiente na eliminação da infecção, concordando com os achados de STERZO *et al* (2005), os quais também registraram efeito inibitório da EC sobre a infecção por SE.

Os dados do presente estudo reforçam os dados de LEV & BRIGGS (1956), MEAD & ADAMS (1975) e CORRIER *et al*. (1994), os quais comprovaram a importância do tratamento precoce da ave, já que o trato digestório das mesmas é praticamente estéril no momento da eclosão, e a microbiota intestinal é naturalmente estabelecida 48 horas após o início da alimentação. Nossos dados, entretanto, diferem dos obtidos por ZIPRIN *et al.* (1993) para aves que foram desafiadas oralmente com *Salmonella* Typhimurium (mesmo sorogrupo da *Salmonella* Enteritidis) no 1º dia de vida e tratadas com EC após 72 horas, pois as mesmas apresentaram capacidade protetora contra este sorotipo**.**

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis (SE) por grama de conteúdo cecal, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Sexo (S)				
M	4,39 a	3,70 a	3,71 a	4,01 a
F	4,36 a	3,51 a	3,69 a	3,92 a
Tratamentos (T)				
NI	< 2,00 b	< 2,00 b	< 2,00 b	< 2,00 b
I	6,45 a	6,34 a	5,73 a	6,11 a
IEC	7,05 a	5,08 a	5,08 a	5,74 a
ECI	< 2,00 b	< 2,00 b	< 2,00 b	< 2,00 b
Probabilidades				
S	0,8870 ^{ns}	0,6110 ^{ns}	0,9450 ^{ns}	0,5210 ^{ns}
T	0,0000 *	0,0000 *	0,0000 *	0,0000 *
S x T	0,2290 ^{ns}	0,3050 ^{ns}	0,1450 ^{ns}	0,0000 *
C.V. (%)[1]	23,43	17,23	11,90	13,54

1 = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea, NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Foi registrada interação significativa (p<0,05) entre sexo e tratamento no 7º dia pós-infecção (Tabelas 1 e 2), mostrando que apesar do tratamento com EC após a infecção (IEC) não ter eliminado a bactéria do intestino dos pintos, em nenhum dos sexos, ele promoveu um aumento do número de colônias nos machos e uma redução da mesma nas fêmeas em relação aos pintos infectados. Além disso, no tratamento I, os pintos machos apresentaram valores de UFC de SE significativamente (p<0,05) inferiores aos das fêmeas, enquanto que no tratamento IEC os machos apresentam os maiores (p<0,05) valores de UFC de SE. Estes dados mostraram que machos e fêmeas podem responder de forma distinta ao tratamento com EC após infecção e que este tratamento reduz a infecção nas fêmeas.

Os pintos, de ambos os sexos, não apresentaram mortalidade até o 7º dia em nenhum dos tratamentos, indicando que os tratamentos não afetaram a capacidade criatória das aves.

Tabela 2. Interação entre os sexos e tratamentos sobre o número (Log $_{10}$) de UFC de *Salmonella* Enteritidis (SE) por grama de conteúdo cecal, em pintos de corte. Jaboticabal, 2006.

Sexo	**Tratamentos**			
	NI	**I**	**IEC**	**ECI**
M	< 2,00 Ca	5,52 Bb	6,52 Aa	< 2,00 Ca
F	< 2,00 Ca	6,70 Aa	4,90 Bb	< 2,00 Ca

A-B, a – b: Médias seguidas de letras distintas (linhas e colunas, respectivamente) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Peso Corporal

Os dados (Tabela 3) mostraram que houve influência significativa ($p<0,05$) do sexo sobre o peso corporal (PC) dos pintos apenas no 3º dia pós-infecção, sendo o PC maior nas fêmeas do que nos machos Também houve efeito significativo ($p<0,05$) dos tratamentos sobre o PC, mas no 5º e 7º dias pós-infecção, nos quais os pintos dos tratamentos I, IEC e ECI não diferiram entre si quanto aos seus PC, mas apresentaram PC menores ($p<0,05$) do que os registrados para os pintos NI. Não foi registrada interação significativa entre sexos e tratamentos em nenhum dos dias analisados.

A redução do PC das aves dos tratamentos I e IEC em relação às aves do tratamento NI, a partir do 5º até o 7º dia pós-infecção, corrobora com os dados de MEAD & IMPEY (1987), HINTON JR. *et al*, (1990) e GAST (1997), os quais afirmaram que a enfermidade paratífica pode ocasionar retardo no crescimento. Chama a atenção o fato dos pintos do tratamento ECI também ter apresentado, a partir do 5º até o 7º dia pós-infecção, PC menor que os pintos do tratamento NI. Considerando que os pintos desse tratamento (ECI) não apresentaram contagem significativa de SE, o menor PC dos mesmos em relação aos pintos controles (NI) pode ter sido provocado pela EC, provavelmente uma conseqüência da exposição das aves a uma microbiota, até então, inexistente no trato gastrintestinal.

Tabela 3. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o peso corporal (g) e do fígado (g) de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Peso Corporal				
Sexo (S)				
M	50,36 a	61,70 b	79,60 a	98,40 a
F	50,06 a	69,10 a	82,70 a	95,30 a
Tratamentos (T)				
NI	49,80 a	67,90 a	92,70 a	114,00 a
I	48,20 a	64,70 a	76,40 b	86,10 b
IEC	50,70 a	61,70 a	74,10 b	90,60 b
ECI	52,10 a	67,20 a	81,50 b	96,70 b
Probabilidade				
S	0,7680 ^{ns}	0,0000 *	0,2090 ^{ns}	0,4940 ^{ns}
T	0,0740 ^{ns}	0,0750 ^{ns}	0,0000 *	0,0010 *
S x T	0,2040 ^{ns}	0,0920 ^{ns}	0,2650 ^{ns}	0,3310 ^{ns}
C.V. (%)[1]	22,34	18,97	21,76	8,72
Peso do Fígado				
Sexo (S)				
M	1,43 a	1,94 a	2,82 a	3,40 a
F	1,42 a	2,12 a	2,66 a	3,29 a
Tratamentos (T)				
NI	1,42 a	2,18 a	3,14 a	3,72 a
I	1,37 a	2,02 a	2,26 a	3,40 a
IEC	1,43 a	2,00 a	2,72 a	3,59 a
ECI	1,48 a	1,97 a	2,85 a	3,67 a
Probabilidade				
S	0,8520 ^{ns}	0,1050 ^{ns}	0,4980 ^{ns}	0,6630 ^{ns}
T	0,7810 ^{ns}	0,5110 ^{ns}	0,0810 ^{ns}	0,2400 ^{ns}
S x T	0,1920 ^{ns}	0,1370 ^{ns}	0,7380 ^{ns}	0,2170 ^{ns}
C.V. (%)[1]	8,93	11,32	24,13	14,42

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Peso do Fígado

Na tabela 3 estão contidos os dados referentes ao peso do fígado (PF). Não houve influência significativa dos sexos e/ou dos tratamentos (T) sobre este parâmetro em nenhum dos dias pós-infecção analisados. Também não houve interação entre sexos e tratamentos.

Contudo, alterações macroscópicas não foram observadas durante a necropsia das aves em nenhum dos dias pós-infecção analisados. Sendo assim, nossos dados sugerem que a infecção por *Salmonella* Enteritidis e tratamento com EC antes ou após a infecção não alteraram o peso e anatomia do órgão, provavelmente em função do curto período ao qual as aves foram expostas ao agente patogênico no presente estudo.

Peso da Bursa de Fabrícius

Os dados sobre o peso da bursa de Fabrícius constam na tabela 4. Os dados mostraram que o sexo não influenciou significativamente ($p>0,05$) o peso do órgão em nenhuma das idades analisadas. Foi registrado efeito significativo dos tratamentos ($p<0,05$), mas apenas no 7º dia pós-infecção, idade na qual os pintos do tratamento I e IEC apresentaram menor peso de bursa do que os pintos dos tratamentos NI e ECI, que não diferiram entre si quanto a este parâmetro. Não foi registrada interação significativa entre sexos e tratamentos para peso de bursa.

Estes dados mostram que infecção com SE resultou em redução do peso órgão, sugerindo uma atrofia, ou falta de desenvolvimento do mesmo, e que EC após infecção não inibe o efeito da SE sobre a bursa. Alteração no desenvolvimento da bursa tem sido registrada em casos de infecções virais como no caso da doença de Gumboro (MONTASSIER, 2000). A redução no peso das mesmas em pintos infectados, neste experimento, sugere que infecção bacteriana exerce sobre estes órgãos efeitos similares aos de infecções virais, ou seja, depressão do sistema imune. De acordo com os dados do presente estudo, entretanto, tratamento com EC antes da infecção por SE inibe o efeito da infecção de SE sobre o órgão, contrariamente ao observado para o peso do fígado, o que

indica uma maior sensibilidade da bursa, que do fígado à infecção por SE, apesar deste último ser um dos mais importantes órgãos de eleição para a pesquisa de *Salmonella* segundo BERCHIERI JR (2000).

Parâmetros Hematológicos

Glicemia

Os valores de glicemia são mostrados na tabela 4. Eles não sofreram influência significativa ($p>0,05$) dos sexos e/ou tratamentos em nenhum dos dias pós-infecção analisados, e não houve interação significativa entre sexos e tratamentos.

Os valores encontrados foram similares aos encontrados por de BELO *et al*. (1976) e mostraram que a infecção pós-eclosão não deprimiu o metabolismo energético das aves.

Tabela 4. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o peso da bursa de Fabrício (g) e glicemia (mg/dL) em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Peso da Bursa de Fabricius				
Sexo (S)				
M	0,08 a	0,09 a	0,13 a	0,17 a
F	0,08 a	0,09 a	0,14 a	0,17 a
Tratamentos (T)				
NI	0,08 a	0,09 a	0,14 a	0,21 a
I	0,08 a	0,08 a	0,12 a	0,13 b
IEC	0,08 a	0,10 a	0,14 a	0,15 b
ECI	0,08 a	0,10 a	0,14 a	0,18 a
Probabilidade				
S	0,6290 ^{ns}	0,6220 ^{ns}	0,1790 ^{ns}	0,9490 ^{ns}
T	0,9870 ^{ns}	0,4380 ^{ns}	0,1120 ^{ns}	0,0380 *
S x T	0,5000 ^{ns}	0,4280 ^{ns}	0,9750 ^{ns}	0,5090 ^{ns}
C.V. (%)[1]	23,74	17,76	12,13	9,78
Glicemia				
Sexo (S)				
M	239,30 a	283,00 a	261,00 a	231,00 a
F	241,10 a	267,00 a	278,00 a	233,30 a
Tratamentos (T)				
NI	244,90 a	282,00 a	238,00 a	226,00 a
I	235,40 a	314,00 a	315,00 a	225,00 a
IEC	237,30 a	242,00 a	265,00 a	249,00 a
ECI	243,10 a	262,00 a	262,00 a	229,00 a
Probabilidade				
S	0,8310 ^{ns}	0,5270 ^{ns}	0,4220 ^{ns}	0,8610 ^{ns}
T	0,8290 ^{ns}	0,2100 ^{ns}	0,0980 ^{ns}	0,5260 ^{ns}
S x T	0,2630 ^{ns}	0,2910 ^{ns}	0,5020 ^{ns}	0,1700 ^{ns}
C.V. (%)[1]	8,76	7,49	11,95	17,34

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Eritrograma

O hemograma consta de uma série de provas que possibilitam detectar anormalidades que se apresentam em certos fenômenos fisiopatológicos importantes nos animais e que se refletem no sangue (CHARLES NORIEGA, 2000). Os valores referentes às provas do eritrograma do presente estudo constam nas tabelas 5, 6, 7 e 8.

Houve efeito significativo ($p<0,05$) do sexo sobre os valores do RBC e HGB, mas apenas no 3º dia pós-infecção (Tabela 5), sendo os mesmos maiores nas fêmeas do que nos machos. Todavia, interação significativa entre sexos e tratamentos (Tabelas 5 e 7) mostrou que os valores de RBC foram maiores nas fêmeas do que nos machos apenas nos tratamentos I e IEC. No tratamento NI, os valores de RBC foram maiores nos machos do que nas fêmeas, enquanto que no tratamento EIC não ocorreu diferença entre os sexos.

Os valores de HGB, por sua vez, foram maiores nas fêmeas do que nos machos apenas nos pintos do tratamento I. Nos demais tratamentos não foram registradas diferenças entre os sexos para HGB. Também houve efeito significativo dos tratamentos sobre os valores de RBC e HGB (Tabela 5), mostrando que pintos tratados com EC antes da infecção com SE (IEC) apresentaram valores de ambos os parâmetros menores do que os pintos dos três outros grupos (NI, I e ECI), os quais não diferiram entre si quanto a estes parâmetros. Entretanto, a interação entre sexos e tratamentos (Tabelas 5 e 7) mostrou que nos pintos machos infectados (I) os valores de RBC foram similares aos valores observados para os pintos do tratamento IEC, que tiveram os menores valores.

Em relação aos valores de HCT, não houve efeito principal significativo ($p>0,05$) dos tratamentos, mas ocorreu efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos e apenas no 3º dia pós-infecção (Tabela 6), sendo os valores deste parâmetro maiores nas fêmeas do que nos machos. Contudo, interação significativa entre sexos e tratamentos mostrou que os tratamentos afetam os valores de HCT dos machos, sendo os mesmos menores ($p<0,05$) nos pintos dos tratamentos I e IEC

do que nos tratamentos NI e ECI (Tabelas 6 e 7). A interação também mostrou que a diferença nos valores de HCT entre os sexos ocorreu apenas nos tratamentos I e IEC.

Os dados acima mostraram que os pintos machos do tratamento IEC apresentaram redução do RBC, HGB e HCT (em comparação ao tratamento controle NI), concordando com os achados de CARDOSO *et al*. (2003), os quais afirmaram que a infecção aguda causada pela *Salmonella* Gallinarum pode causar um quadro de severa anemia, caracterizada pela acentuada queda do RBC, HGB e HCT. Os pintos machos do tratamento I, por sua vez, apresentaram redução do RBC e HCT. Por outro lado, as fêmeas do tratamento I, apresentaram redução apenas do HGB.

O ferro é um elemento essencial para a multiplicação bacteriana (BULLEN, 1981). Assim, é possível que a redução nos valores de HGB observados nos pintos machos e fêmeas no presente estudo seja resultante de uma redução momentânea no ferro, utilizada pela bactéria para multiplicar-se, uma vez que, segundo HIRSH (2003), as salmonelas invasivas são capazes de secretar um sideróforo, a enterobactina, que remove o ferro das proteínas quelantes do ferro do hospedeiro.

Quanto aos valores de VCM, não houve efeito principal dos sexos e tratamentos em nenhum dos dias analisados, e nem interação entre sexos e tratamentos (Tabela 6).

Tabela 5. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número de eritrócitos (RBC) em 10^6/µL e hemoglobina (HGB) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Número de eritrócitos				
Sexo (S)				
M	2,07 a	1,94 b	2,16 a	2,23 a
F	2,18 a	2,20 a	2,12 a	2,42 a
Tratamentos (T)				
NI	2,09 a	2,32 a	1,91 a	2,47 a
I	2,17 a	2,17 ab	2,12 a	2,44 a
IEC	2,27 a	1,71 b	2,51 a	2,28 a
ECI	1,97 a	2,10 ab	2,03 a	2,11 a
Probabilidade				
S	0,4670 ^{ns}	0,0460 *	0,8740 ^{ns}	0,4220 ^{ns}
T	0,5740 ^{ns}	0,0100 *	0,2490 ^{ns}	0,6850 ^{ns}
S x T	0,4440 ^{ns}	0,0010 *	0,2990 ^{ns}	0,6910 ^{ns}
C.V. (%)[1]	14,32	15,43	6,63	18,96
Hemoglobina				
Sexo (S)				
M	11,08 a	9,03 b	11,22 a	11,55 a
F	10,62 a	10,88 a	10,40 a	12,06 a
Tratamentos (T)				
NI	11,59 a	9,88 ab	11,10 a	11,70 a
I	10,72 a	11,56 a	10,50 a	13,00 a
IEC	10,61 a	8,32 b	12,40 a	11,10 a
ECI	10,46 a	10,07 ab	9,30 a	11,40 a
Probabilidade				
S	0,5620 ^{ns}	0,0160 *	0,5320 ^{ns}	0,6170 ^{ns}
T	0,7350 ^{ns}	0,0330 *	0,4220 ^{ns}	0,5640 ^{ns}
S x T	0,4320 ^{ns}	0,0070 *	0,5150 ^{ns}	0,5010 ^{ns}
C.V. (%)[1]	22,42	11,34	17,89	13,69

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Tabela 6. Efeitos dos sexos e sobre o hematócrito (HCT) em % e o volume corpuscular médio (VCM) em μm^3, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
	Hematócrito			
Sexo (S)				
M	31,40 a	27,30 b	32,80 a	34,10 a
F	30,50 a	31,30 a	29,90 a	36,30 a
Tratamentos (T)				
NI	30,30 a	30,10 a	28,40 a	37,10 a
I	29,60 a	31,10 a	30,50 a	36,20 a
IEC	31,30 a	25,30 a	36,90 a	33,50 a
ECI	32,60 a	30,70 a	29,60 a	33,90 a
Probabilidade				
S	0,6850 ^{ns}	0,0410 *	0,3800 ^{ns}	0,5450 ^{ns}
T	0,8010 ^{ns}	0,1330 ^{ns}	0,2830 ^{ns}	0,8640 ^{ns}
S x T	0,4720 ^{ns}	0,0020 *	0,5030 ^{ns}	0,5310 ^{ns}
C.V. (%)[1]	14,97	12,43	15,56	12,54
	Volume Corpuscular Médio			
Sexo (S)				
M	81,84 a	84,2 a	88,38 a	89,20 a
F	82,00 a	81,4 a	88,05 a	88,54 a
Tratamentos (T)				
NI	81,32 a	83,6 a	88,95 a	90,09 a
I	81,98 a	86,0 a	86,50 a	88,96 a
IEC	83,14 a	79,9 a	88,14 a	87,96 a
ECI	81,24 a	81,6 a	89,27 a	88,46 a
Probabilidade				
S	0,8010 ^{ns}	0,5690 ^{ns}	0,6730 ^{ns}	0,4610 ^{ns}
T	0,1360 ^{ns}	0,8330 ^{ns}	0,0880 ^{ns}	0,3790 ^{ns}
S x T	0,4530 ^{ns}	0,6940 ^{ns}	0,7900 ^{ns}	0,4980 ^{ns}
C.V. (%)[1]	9,78	7,75	9,27	11,32

1 = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Tabela 7. Interação entre os sexos e tratamentos sobre o número de eritrócitos (RBC) em 10^6/µL e a hemoglobina (HGB) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias).

Sexos	Tratamentos			
	NI	**I**	**IEC**	**ECI**
Número de eritrócito				
M	2,52 Aa	1,59 Cb	1,57 Cb	2,09 Ba
F	2,11 Ab	2,73 Aa	1,84 Aa	2,11 Aa
Hemoglobina				
M	9,92 Aa	8,25 Ab	7,82 Ba	10,14 Aa
F	9,83 Aa	14,87 Aa	8,83 Ba	10,00 Aa
Hematócrito				
M	31,96 Aa	22,50 Bb	22,67 Bb	32,02 Aa
F	28,20 Aa	39,71 Aa	28,00 Aa	29,48 Aa

A-B, a – b: Médias seguidas de letras distintas (linhas e colunas, respectivamente) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Os valores de HCM e CHCM não foram influenciados pelo sexo ($p>0,05$), mas ocorreu efeito significativo dos tratamentos no 1º e 3º dias pós-eclosão (Tabela 8). Em ambos os dias, os valores de HCM foram similares nos pintos dos tratamentos I e IEC e menores ($p<0,05$) do que nos pintos dos tratamentos NI e ECI, que não diferiram entre si. Dados similares foram obtidos para os valores de CHCM no 1º dia pós-infecção. No 3º dia, entretanto, pintos infectados (I) apresentaram os maiores valores de CHCM, e não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os pintos dos três outros tratamentos. Não foi registrada interação significativa entre sexos e tratamentos para HCM e CHCM (Tabela 8).

Segundo WINTROBE (1933), esses índices (VCM, HCM e CHCM) detectam a presença de anemia e avaliam a capacidade que a medula óssea tem de produzir hemácias de tamanho e capacidade metabólica normais, assim como o conteúdo de hemoglobina. Considerando que aves dos tratamentos I e IEC (as quais apresentam contagem significativa para SE) apresentaram redução significativa ($p<0,05$) destes parâmetros (HCM e CHCM), nossos dados sugerem que a presença da bactéria no organismo da ave, pode provocar um quadro anêmico, pelo menos até o 3º dia pós-infecção.

Entre os sexos, as interações demonstraram que no tratamento I os machos apresentaram o RBC, HGB e HCT menores que os das fêmeas, enquanto que no tratamento IEC os machos apresentaram apenas o RBC e o HCT menores.

Tais dados indicam que a presença de *Salmonella* Enteritidis nas aves provoca uma resposta sexo-específica para o RBC, HGB e HCT. Em conjunto as provas do eritrograma sugerem um quadro anêmico, porém momentâneo, uma vez que, a partir do 5º dia pós-infecção, essas diferenças não foram mais registradas

Em suma, as alterações hematológicas encontradas na série vermelha dos pintos ficam restritas aos três primeiros dias pós-infecção, indicando que o quadro em questão é uma reação temporária.

Tabela 8. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre a hemoglobina corpuscular média (HCM) em picograma (pg) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em g/dL, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Hemoglobina Corpuscular Média				
Sexo (S)				
M	61,70 a	55,90 a	51,80 a	52,90 a
F	59,70 a	54,20 a	51,50 a	49,60 a
Tratamentos (T)				
NI	73,70 a	59,30 a	53,10 a	49,30 a
I	49,60 b	52,70 b	50,00 a	55,10 a
IEC	47,00 b	48,80 b	48,70 a	48,90 a
ECI	72,50 a	59,30 a	54,80 a	51,70 a
Probabilidades				
S	0,3020 ^{ns}	0,5380 ^{ns}	0,9120 ^{ns}	0,3440 ^{ns}
T	0,0000 *	0,0200 *	0,4090 ^{ns}	0,5570 ^{ns}
S x T	0,8700 ^{ns}	0,7750 ^{ns}	0,5130 ^{ns}	0,7930 ^{ns}
C.V. (%)[1]	13,23	16,27	13,78	19,78
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média				
Sexo (S)				
M	73,50 a	56,30 a	58,60 a	58,10 a
F	73,00 a	54,70 a	61,10 a	55,00 a
Tratamentos (T)				
NI	87,90 a	54,50 b	61,90 a	54,70 a
I	59,70 b	61,30 a	57,70 a	62,10 a
IEC	56,80 b	55,10 b	55,30 a	55,60 a
ECI	88,50 a	51,10 b	64,60 a	53,70 a
Probabilidades				
S	0,8130 ^{ns}	0,3570 ^{ns}	0,5080 ^{ns}	0,4230 ^{ns}
T	0,0000 *	0,0010 *	0,3390 ^{ns}	0,4280 ^{ns}
S x T	0,9800 ^{ns}	0,1030 ^{ns}	0,2680 ^{ns}	0,7130 ^{ns}
C.V. (%)[1]	21,78	19,78	12,65	15,45

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Leucograma

Em relação à série branca do sangue (leucograma), foram realizadas a contagem total e diferencial dos leucócitos.

Conforme consta da tabela 9, não ocorreu efeito significativo ($p>0.05$) do sexo sobre os valores da contagem total de leucócitos (CTLEU), mas houve efeito significativo ($p<0,05$) dos tratamentos (T) no 1º, 5º e 7º dias pós-infecção Nestas três idades, as aves dos tratamentos I e IEC (com contagem significativa de SE), apresentaram valores de CTLEU superiores ($p<0,05$) aos dos tratamentos NI e ECI. Tais dados evidenciam um quadro de leucocitose e que, tratamento com EC antes da infecção, mas não pós-infecção, pode evitá-lo. Houve interação significativa ($p<0,05$) entre sexo e tratamentos apenas no 3º dia pós-infecção (Tabelas 9 e 11), mostrando que nesta idade os machos do tratamento I e IEC apresentaram, ao contrário das fêmeas, CTLEU menores do que os machos dos tratamentos NI e ECI. Considerando que os pintos destes dois últimos tratamentos não apresentaram contagem significativa de SE, nossos dados mostram a ocorrência de uma leucopenia temporária nos machos 3 dias após a infecção, indicando uma depressão temporária do sistema imune celular e, portanto, uma maior sensibilidade dos machos à infecção, em comparação com as fêmeas. A interação também registrou uma CTLEU sexo específica nos pintos NI, no 3º dia pós-infecção, sendo os valores maiores nos machos do que nas fêmeas.

Tabela 9. Efeitos do sexo e tratamentos sobre a contagem total de leucócitos (LEU, $10^3/\mu L$) e o percentual de linfócitos, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Leucócitos				
Sexo (S)				
M	10,18 a	9,62 a	10,89 a	14,81 a
F	13,19 a	8,37 a	11,91 a	15,27 a
Tratamentos (T)				
NI	8,54 b	8,79 a	8,41 b	10,87 b
I	14,58 a	7,50 a	12,66 a	21,95 a
IEC	12,84 a	9,91 a	15,29 a	16,87 a
ECI	10,80 b	9,79 a	9,25 b	10,45 b
Probabilidades				
S	0,0550 ^{ns}	0,1710 ^{ns}	0,4620 ^{ns}	0,8140 ^{ns}
T	0,0480 *	0,2160 ^{ns}	0,0050 *	0,0010 *
S x T	0,3060 ^{ns}	0,0000 *	0,3540 ^{ns}	0,4170 ^{ns}
C.V. (%)[1]	6,98	9,06	14,95	11,23
Linfócitos				
Sexo (S)				
M	56,9 a	70,44 b	72,25 b	66,60 a
F	53,7 a	74,81 a	75,00 a	67,90 a
Tratamentos (T)				
NI	59,90 a	69,50 b	79,38 a	69,60 a
I	50,40 b	72,88 b	71,75 bc	65,10 a
IEC	54,40 b	79,38 a	76,88 ab	70,30 a
ECI	56,50 b	68,75 b	66,50 c	64,35 a
Probabilidades				
S	0,1340 ^{ns}	0,0000 *	0,0000 *	0,6930 ^{ns}
T	0,0240 *	0,0000 *	0,0000 *	0,4580 ^{ns}
S x T	0,0800 ^{ns}	0,0000 *	0,0000 *	0,4010 ^{ns}
C.V. (%)[1]	19,24	14,98	17,07	13,76

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Em relação aos linfócitos (Tabela 9), foi registrado efeito significativo ($p<0,05$) do sexo no 3º e 5º dias pós-infecção e efeito significativo ($p<,05$) dos tratamentos no 1º, 3º e 5º dias pós-infecção.

No 1º dia pós-infecção, as aves dos tratamentos I, IEC e ECI apresentaram porcentagens de linfócitos significativamente ($p<0,05$) inferiores ao do tratamento NI, ou seja, houve uma linfopenia dos tratamentos I, IEC e ECI (infectados) em relação ao tratamento controle NI, indicando que no início da infecção EC após ou antes da infecção não evita o efeito depressivo da infecção sobre o sistema imune celular. Esta linfopenia observada na fase inicial do processo inflamatório pode ser devido à liberação de hormônios adrenocorticosteróides que são linfodepressores (MORGULIS, 2002).

No 3º dia pós-infecção, em relação aos efeitos principais, fêmeas apresentaram maior percentagem de linfócitos do que os machos, e os pintos dos tratamentos I e ECI adquiriram contagem de linfócitos similar à dos pintos NI, enquanto que os pintos IEC adquiriram contagem significativamente ($p<0,05$) maior do que as observadas para os pintos dos três outros tratamentos. Todavia, houve interação significativa ($p<0,05$) entre sexo e tratamentos, mostrando que a maior contagem de linfócitos nas fêmeas do que os machos ocorreu apenas nos pintos I e ECI. A interação também registrou a ocorrência de diferenças entre os sexos nas respostas à infecção e ao tratamento com EC.

Em comparação com os machos NI, machos infectados (I) não apresentaram alteração na contagem de linfócitos, enquanto que os machos IEC tiveram um aumento (leucocitose) e os machos ECI uma redução (linfopenia) na contagem de linfócitos. Por sua vez, as fêmeas I, IEC e ECI apresentaram aumento (linfocitose) na contagem de linfócitos em relação às fêmeas NI, mostrando uma maior sensibilidade ou maior poder de resposta das fêmeas do que dos machos à infecção por SE e que, aparentemente, na idade em questão (3 dias após infecção), EC antes da infecção foi eficaz em minimizar o efeito da infecção, mas apenas nos machos.

No 5º dia pós-infecção, fêmeas continuaram a apresentar maior contagem de linfócitos do que os machos (Tabela 9). Além disso, pintos I apresentaram uma

redução (linfopenia) na contagem de linfócitos em relação aos pintos NI, enquanto que os pintos IEC apresentaram valores similares aos obtidos para pintos NI e os pintos ECI tiveram uma redução (linfopenia) na contagem em relação aos tratamentos NI e IEC. Entretanto, houve interação significativa ($p<0,05$) entre sexo e tratamentos no 5º dia pós-infecção, mostrando que diferença na contagem de linfócitos entre machos e fêmeas ocorreu nos tratamentos NI e I, sendo a contagem maior nos machos que nas fêmeas, no primeiro tratamento, e maior nas fêmeas do que nos machos, no segundo tratamento.

A interação também mostrou que no 5º dia, machos infectados (I) e tratados com EC (IEC e ECI) tiveram menor contagem de linfócitos do que os NI. No caso das fêmeas, apenas as do tratamento ECI tiveram contagens menores (linfopenia) do que as das fêmeas do tratamento controle (NI). As fêmeas dos tratamentos I e ECI apresentaram contagens de leucócitos similares entre si e à das fêmeas NI.

No 7º dia pós-infecção não foram mais registradas diferenças nas contagens de linfócitos entre os tratamentos. Esses dados são muito interessantes, pois mostram que tanto machos quanto fêmeas, infectados com e sem tratamento com EC, conseguiram recuperar os efeitos da infecção por SE sobre a contagem de linfócitos aos 7 dias pós-infecção. Todavia, as respostas dos dois sexos até a normatização da contagem de linfócitos não foram as mesmas, e fêmeas se mostraram uma recuperação mais rápida, provavelmente em função da leucocitose apresentada pelas mesmas já no 3º dia.

Tabela 10. Efeitos do sexo e tratamentos sobre o percentual de heterófilos e de basófilos, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3 , 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Heterófilos				
Sexo (S)				
M	39,30 a	26,19 a	26,63 a	30,80 a
F	42,30 a	23,31 b	23,06 b	29,70 a
Tratamentos (T)				
NI	35,60 b	27,40 a	18,80 c	27,30 a
I	44,40 a	24,80 a	27,30 ab	32,40 a
IEC	42,30 ab	17,30 b	20,90 bc	27,00 a
ECI	40,90 ab	29,60 a	32,50 a	34,30 a
Probabilidades				
S	0,0740 ^{ns}	0,0110 *	0,0030 *	0,7240 ^{ns}
T	0,0070 *	0,0000 *	0,0000 *	0,2360 ^{ns}
S x T	0,0140 *	0,0000 *	0,0000 *	0,2360 ^{ns}
C.V. (%)[1]	13,43	11,96	13,45	16,79
Basófilos				
Sexo (S)				
M	1,25 a	1,44 a	0,19 a	1,00 a
F	1,94 a	0,50 b	0,75 a	1,06 a
Tratamentos (T)				
NI	1,63 a	1,63 a	0,63 a	1,38 a
I	2,50 a	0,88 a	0,00 a	1,00 a
IEC	1,25 a	0,63 a	0,88 a	1,00 a
ECI	1,00 a	0,75 a	0,38 a	0,75 a
Probabilidades				
S	0,1340 ^{ns}	0,0090 *	0,1410 ^{ns}	0,8370 ^{ns}
T	0,1150 ^{ns}	0,1620 ^{ns}	0,4020 ^{ns}	0,5390 ^{ns}
S x T	0,2020 ^{ns}	0,1990 ^{ns}	0,6450 ^{ns}	0,4230 ^{ns}
C.V. (%)[1]	16,78	15,24	14,54	11,22

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Tabela 11. Interação entre sexos e tratamentos sobre a contagem total de leucócitos em $10^3/\mu L$ e os percentuais de linfócitos e heterófilos, em pintos de corte. Jaboticabal, 2006.

	Sexos	Tratamentos			
		NI	**I**	**IEC**	**ECI**
Leucócitos					
3º DPI	**M**	12,66 Aa	5,16 Ba	9,00 Ba	11,66 Aa
	F	4,91 Bb	9,83 Aa	10,83 Aa	7,91 Ba
Linfócitos					
3º DPI	**M**	69,00 Ba	69,00 Bb	81,25 Aa	62,50 Cb
	F	70,00 Ba	76,75 Aa	77,50 Aa	75,00 Aa
5º DPI	**M**	84,00 Aa	65,75 Cb	76,50 Ba	62,75 Ca
	F	74,75 Ab	77,75 Aa	77,25 Aa	70,25 Ba
Heterófilos					
1º DPI	**M**	29,25 Bb	46,00 Aa	41,50 Aa	40,25 Aa
	F	42,00 Aa	42,75 Aa	43,00 Aa	41,50 Aa
3º DPI	**M**	26,25 Ba	28,75 Ba	14,50 Ca	35,25 Aa
	F	28,50 Aa	20,75 Bb	20,00 Ba	24,00 Bb
5º DPI	**M**	14,75 Cb	33,50 Aa	22,00 Ba	36,25 Aa
	F	22,75 Ba	21,00 Bb	19,75 Ba	28,75 Aa

A-B, a – b: Médias seguidas de letras distintas (linhas e colunas, respectivamente) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Os dados de contagens de heterófilos constam nas tabelas 10 e 11. Ocorreu efeito significativo ($p<0,05$) do sexo no 3º e 5º dias pós-infecção e dos tratamentos no 1º, 3º e 5º dias.

No 1º dia, os pintos infectados tiveram um aumento na contagem de heterófilos (heterofilia) em comparação com os pintos controles (NI). Todavia, houve interação significativa ($p<0,05$) entre sexo e tratamentos, mostrando que nesta idade, no tratamento NI, fêmeas apresentaram contagem maior de heterófilo do que os machos e, mais que isso, que apenas os machos apresentaram alteração na contagem de heterófilos, sendo as contagens nos machos dos tratamentos I, ECI e IEC similares entre si e maiores do que a contagem para os machos do tratamento NI.

No 3º dia pós-infecção, machos apresentaram contagem de heterófilos maior do que as fêmeas. Além disso, apenas os pintos do tratamento IEC apresentaram contagem de heterófilos diferente da do tratamento NI, sendo menor do que a mesma. Entretanto, ocorreu interação significativa ($p<0,05$) entre sexos e tratamentos, segundo a qual apenas os machos dos tratamentos I e ECI apresentaram contagens de heterófilos maiores do que as fêmeas. Ainda segundo a interação, no 3º dia pós-infecção, as fêmeas dos tratamentos I, IEC e ECI tiveram contagens de heterófilos similares entre si, mas menores (heteropenia) do que as registradas para as fêmeas do tratamento NI. Por outro lado, machos do tratamento IEC tiveram uma redução (heteropenia) da contagem de heterófilos, enquanto que os machos do tratamento ECI tiveram um aumento (heterofilia).

No 5º dia pós-infecção, machos continuaram com contagem de heterófilos maior do que as fêmeas, mas segundo interação significativa entre sexos e tratamentos, isso ocorreu apenas nos pintos do tratamento I. Em relação aos tratamentos, nos efeitos principais, pintos do tratamentos I e ECI tiveram contagens de heterófilos maiores ($p<0,05$) (heterofilia) do que os pintos NI e IEC. Interação mostrou que isso ocorreu apenas para os machos. No caso das fêmeas, apenas as do tratamento ECI tiveram contagem de heterófilos diferente da registrada para as fêmeas NI, ou seja, menor (heteropenia) do que a mesma. No 7º dia pós-infecção, como ocorreu para a contagem de linfócitos, não foram mais

registradas diferenças entre os tratamentos quanto à contagem de heterófilos. De forma similar ao observado para a contagem de linfócitos, em relação aos heterófilos, houve uma normatização das contagens no 7º dia pós-infecção, machos e fêmeas responderam de forma distinta á infecção até a normatização.

Nossos dados anteriores sobre a série branca mostraram uma coincidência temporal entre a ocorrência de leucocitose e heterofilia, concordando com os achados de MORGULIS (2002), o qual registrou, que as leucocitoses geralmente devem-se às heterofilias, sendo suas causas mais comuns às infecções bacterianas, entre elas as salmoneloses.

Apesar das aves do tratamento ECI, não terem apresentado leucocitose, elas apresentaram um quadro de linfopenia e os machos um quadro de heterofilia. Considerando que os pintos desse tratamento não apresentaram contagem significativa de SE, tais alterações no perfil dos tipos leucócitários sugere que a exposição precoce a um “pool” de bactérias (pela EC) desencadeia uma reação hematológica inicial semelhante ao de uma infecção.

Todavia, nos chama atenção o fato de que, no 3º dia pós-infecção, os pintos machos dos tratamentos I e IEC (com contagem significativa de SE) apresentaram acentuada diminuição do número total de leucócitos, evidenciando uma leucopenia. O perfil leucocitário apresentado pelos machos do tratamento IEC (leucopenia com heteropenia e linfocitose), sugere, provavelmente, uma grande migração (diapedese) de heterófilos, para o foco inflamatório, no ceco dos pintos. Apesar dos machos do tratamento I apresentarem uma acentuada leucopenia, não foi registrado diferenças na distribuição percentual dos tipos leucocitários. Diferentemente dos machos, as fêmeas (com contagem significativa de SE) dos tratamentos I e IEC apresentaram um quadro de leucocitose acompanhado de linfocitose com heteropenia, tais resultados sugerem que a heteropenia se deve a migração (diapedese) desse tipo celular para o foco inflamatório.

Nas aves do tratamento ECI, os machos apresentaram heterofilia e linfopenia e as fêmeas heteropenia e linfocitose em comparação ao tratamento controle NI, apesar de não terem apresentado leucocitose.

Na tabela 10 também são apresentados os dados das porcentagens de basófilos. De acordo com os dados, ocorreu efeito significativo ($p<0,05$) do sexo apenas no 3º dia pós-infecção, quando as fêmeas apresentaram percentual de basófilos inferior ao dos machos. Não foram registrados efeitos significativos ($p>0,05$) dos tratamentos e nem interação significativa ($p>0,05$) entre sexos e tratamentos para este parâmetro em nenhuma das idades analisadas.

Em relação à contagem de eosinófilos e monócitos (Tabela 12), não houve efeito significativo do sexo e tratamentos sobre as contagens, e nem interação entre sexo e tratamentos, mostrando que estes parâmetros não são afetados pela infecção com SE.

Do ponto de vista temporal, os dados do 7º dia pós-infecção indicaram um quadro de leucocitose. Entretanto nesta idade ocorreu apenas leucocitose sem alterações significativas dos tipos leucocitários específicos, sugerindo uma cronificação do quadro inflamatório.

Em suma, do ponto de vista prático, os dados demonstram que o uso de EC após infecção não evita a colonização cecal por SE, mas que a mesma é evitada quando a EC é realizada antes da infecção. Além disso, eles também mostraram a existência de resposta sexo-específica frente à infecção por SE e tratamento com EC antes ou após infecção, sugerindo a necessidade de um manejo distinto para pintos machos e fêmeas nos primeiros dias pós-infecção.

Tabela 12. Efeitos dos sexos e tratamentos nos quatro dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias) sobre o percentual de eosinófilos e monócitos. Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Eosinófilos				
Sexo (S)				
M	0,75 a	0,94 a	0,31 a	0,81 a
F	1,06 a	0,75 a	0,75 a	0,94 a
Tratamentos (T)				
NI	0,88 a	1,00 a	0,75 a	1,00 a
I	1,00 a	1,00 a	0,13 a	0,88 a
IEC	1,38 a	1,38 a	0,88 a	1,38 a
ECI	0,38 a	0,00 a	0,38 a	0,25 a
Probabilidades				
S	0,3680 ^{ns}	0,6100 ^{ns}	0,1740 ^{ns}	0,5330 ^{ns}
T	0,2470 ^{ns}	0,0720 ^{ns}	0,3260 ^{ns}	0,0500 ^{ns}
S x T	0,0660 ^{ns}	0,5370 ^{ns}	0,7820 ^{ns}	0,5810 ^{ns}
C.V. (%)[1]	13,45	16,78	18,78	13,98
Monócitos				
Sexo (S)				
M	1,00 a	1,00 a	0,625 a	1,25 a
F	1,88 a	0,63 a	0,438 a	0,81 a
Tratamentos (T)				
NI	2,00 a	0,50 a	0,50 a	1,13 a
I	1,75 a	0,50 a	0,88 a	1,00 a
IEC	0,75 a	1,38 a	0,50 a	1,00 a
ECI	1,25 a	0,88 a	0,25 a	1,00 a
Probabilidades				
S	0,0580 ^{ns}	0,2740 ^{ns}	0,4010 ^{ns}	0,1090 ^{ns}
T	0,2170 ^{ns}	0,2310 ^{ns}	0,2730 ^{ns}	0,9820 ^{ns}
S x T	0,2170 ^{ns}	0,9860 ^{ns}	0,0870 ^{ns}	0,3090 ^{ns}
C.V. (%)[1]	14,89	17,56	12,87	14,24

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05). M: macho, F: fêmea NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, E.L. & STEPHENS, J.F. Changes in the differential leukocyte count of chicks inoculated with *Salmonella*. **Applied Microbiology**, v.19, n.5, p.726-730, 1970.

ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E.N.; RIBEIRO, A.R. Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis. **Brazilian Journal of Microbiology,** v.31, p.107-112, 2000.

BARROW, P.A.; TUCKER, J.F.; SIMPSON, J.M. Inhibition of colonization of the chicken alimentary tract with Salmonella Typhimurium gram-negative facultatively anaerobic bacteria. **Epidemiology and Infection**, v.98, p.311-322, 1987.

BELO, P.S.; ROMSOS, D.R.; LEVEILLE, G.A. Blood metabolites and glucose metabolism in the fed and fasted chicken. **Journal of Nutrition**, v.106, p.1135-1143, 1976.

BERCHIERI, JR. A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI, JR. A.; MACARI, M. **Doenças das aves**, Campinas, FACTA, p.185-195, 2000.

BULLEN, J.J. The significance of iron in infection. **Review Infection Disease**, v.3, n.5, p.1127-1138,1981.

CAMPBELL, T.W. & DEIN, F.J. Avian Hematology. The Basics. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v.14, n.2, p.223- 248, 1984.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO A.G.M. Estudo hematológico em aves inoculadas com *Salmonella Gallinarum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.35-42, jan./mar., 2003

CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de hematología aviar**: material didático para curso de hematologia aviária. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de produccíon animal: Aves. México, 2000. 70p. (Apostila mimeo).

CORRIER, D.E.; HOLLISTER, A.G.; NISBET, D.J. Competitive exclusion of *Salmonella Enteritidis* in leghorn chicks: comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray or lyophilized alginate beads. **Avian Disease**, v.38, p.297-303, 1994.

GAST, R..K. *Salmonella* infections. In: CALNEK, B.W. et al. **Diseases of poultry** , 10°ed. Ames: Iowa State University Press, p.81-121, 1997.

HINTON JR.A.; CORRIER, D.EL; SPATES, G.E.; NORMAN, J.O.; ZIPRIN, R.L.; BEIER, R.C.; DELOACH, J.R. Biological control of *Salmonella typhimurium* in young chickens. **Avian Disease**, v.34, p.626-33, 1990.

KOHAYAGANA, A.; SAUKAS, T.N.; BORETTI,L.P.;BORSA, A.; KUIBIDA, K. Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial no Estado de São Paulo. **Revista. Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas: FACTA. Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. Prêmio José Maria Lamas da Silva, supl. 3, p.82, 2001.

LEV, M; BRIGGS, CAE. The gut of the chicken. The establishment of the flora. **Journal Applied Bacteriology**, v.19, p.224-230, 1956.

MEAD, G.C.; ADAMS, B.W. Some observations on the caecal microflora of the chick during the first two weeks of life. **Bristish Poultry Science**, v.16, p.169-176, 1975.

MEAD, G.C.; IMPEY, C.S. The present status of the Nurmi concept for reducing carriage of food- poisoning Salmonellae and other pathogens in live poultry. In: SMALDRES, F.J.M. **Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry;** Langford: Elsevier Science Publishers, p.57-77, 1987.

MONTASSIER, H.J. Enfermidades do sistema immune. In: Berchieri, Jr. A.; Macari, M. **Doenças das aves**. Campinas. FACTA, p. 133-150, 2000.

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

NATT, M.P & HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v.31, p.735-738, 1952.

OLIVEIRA, G.H.; BERCHIERI JR.A.; BARROW, P.A. Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adults birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.116-120, 2000.

STERZO, E.V.; PENHA FILHO, R.A.C.; PAIVA, J.B.; BERCHIERI JR, A. Time required to protect the intestinal tract of chicks agaisnt Salmonella enterica serovar Enteritidis using competitive exclusion. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas-SP, v. 7, n. 2, p.119-122, 2005.

ZIPRIN, R.L.; CORRIER, D.E.; DELOACH, JR. Control of established Salmonella typhimurium intestinal colonization with in vivo-passaged anaerobes. **Avian Diseases,** v.34, n.3, p.183-188, 1993.

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, 1933.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES E APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Avaliação da integridade da mucosa intestinal de pintos de corte de ambos os sexos submetidos ao tratamento por exclusão competitiva antes e após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis

RESUMO – O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a integridade da mucosa intestinal, por meio de microscopia eletrônica de varredurra, de pintos de corte submetidos ao tratamento por exclusão competitiva (EC) antes e após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis (SE). Foram utilizados 128 pintos, distribuídos num delineamento ao acaso com esquema fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos e 4 o número de tratamentos (NI: não infectados com SE - Controle; I: infectados com SE; IEC: infectados com SE e tratados com EC 24 h após infecção; ECI: tratados com EC e infectados com SE 24 h após tratamento). Os animais foram sacrificados com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção (dpi) para obtenção das amostras do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo). Os dados mostraram que, nos machos, o tratamento com EC antes da infecção com SE age sobre o epitélio do intestino delgado de forma similar ao tratamento realizado após a infecção, reforçando a possibilidade da EC estar acelerando o processo de renovação celular. Ao mesmo tempo, nossos dados também reforçam os dados de GOMIDE et al. (2004), segundo os quais o intestino dos machos seriam mais susceptível a perda de epitélio do que fêmeas. Em suma, o presente trabalho mostra que os vilos do intestino delgado dos pintos de corte apresentam um grande processo de renovação celular ao final da primeira semana de vida e que EC acelera ou acentua o processo.

Palavras-Chave: *Salmonella* Enteritidis, Exclusão Competitiva, Intestino, Aves.

CHAPTER 3 - INTESTINAL MUCOSA INTEGRITY EVALUATION OF YOUNG CHICKENS FROM BOTH SEXES SUBMITTED TO COMPETITIVE EXCLUSION TREATMENT BEFORE AND AFTER EXPERIMENTAL INFECTION WITH *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Intestinal mucosa integrity evaluation of young chickens from both sexes submitted to competitive exclusion treatment before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis

SUMMARY - The present experiment was carried out with the objective to evaluate the integrity of the intestinal mucosa, through scanning electron microscopy where young chickens were submitted to competitive exclusion treatment (CE) before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis (SE). 128 young chickens, distributed in completely randomized design in 4 x 2 factorial arrangement, where 2 are the number of sex and 4 the number of treatments (NI: not infection with SE - Control; I: infection with SE; ICE: infection with SE and treated with CE 24 h after infection; CEI: treated with CE and infection with SE 24 h after treatment). The animals had been sacrificed with 1, 3, 5 and 7 days post infection (dpi) for attainment of samples from the thin intestine (duodenum, jejunum and ileum). The data had shown that, in the males, the treatment with CE before the infection with SE acts on the epithelium of the thin intestine in a similar form to the treatment carried out after the infection, strengthening the possibility of the CE to be speeding up the process of cellular renewal. At the same time, our data also support GOMIDE et al. (2004), according to which the intestine of the males would have more susceptibility to the loss of epithelium than female. In short, the present work shows that the vilos of the thin intestine from the broilers chickens presents a great process of cellular renewal to the end of the first week of life and that CE speeds up or accents the process.

Key-words: *Salmonella* Enteritidis, Competitive Exclusion, Intestine, Chickens.

INTRODUÇÃO

As aves recém-eclodidas apresentam sistema digestório completo (OVERTON & SHOUP, 1964), mas com capacidade funcional de digestão e absorção ainda imatura, se comparada com aves adultas.

Após a eclosão, com a ingestão de alimento, o trato gastrintestinal das aves apresentam, entre outras coisas, mudanças na densidade e tamanho de vilos, profundidade de criptas, altura de epitélio da mucosa, densidade e tamanho de microvilos enterocíticos, e densidade de células caliciformes e produção de mucinas, que determinam a capacidade digestiva, absortiva e de proteção da mucosa intestinal (MACARI, 1999).

Com a ingestão da dieta exógena, o trato gastrointestinal passa a ser colonizado por microbiota, que juntamente com as funções digestórias, a barreira de muco, a integridade da mucosa e a resposta imune exerce papel fundamental na prevenção contra enfermidades entéricas.

A possibilidade de transmissão da resistência antibiótica a patógenos causadores de enfermidade humanas provocou a proibição do uso da maioria dos agentes anti-microbianos e medicamentos utilizados no controle de enfermidades entéricas das aves (BERCHIERI JR & BARROW, 1998). Considerando que a manutenção da sanidade dos lotes de frango de corte, em especial face às doenças ou agentes que atuam no trato gastrintestinal (TGI), é fundamental para o bem estar animal e alto nível de produção, métodos alternativos de controle dos agentes patogênicos intestinais se fazem necessários.

Um método que vem mostrando-se eficaz durante anos, na prevenção de doenças e possivelmente na melhoria no desempenho e estado geral das aves é o método da Exclusão Competitiva (EC) ou Conceito de "Nurmi". Ele consiste na administração de microbiota intestinal de aves adultas no intestino de aves recém eclodidas, com o intuito de excluir a presença de microrganismos indesejáveis devido à aceleração da colonização intestinal por microrganismos benéficos (NURMI & RANTALA, 1973).

Segundo FERREIRA & FERREIRA (2006) a ação da exclusão competitiva pode ser explicada pelo estabelecimento de uma microbiota intestinal antes do contato com *Salmonella*, formando-se uma barreira física à colonização por esta bactéria, pela competição entre o patógeno e a microbiota por nutrientes essenciais ou, ainda, pela produção de ácidos graxos voláteis, principalmente por bactérias anaeróbicas, o que diminui o pH intestinal e serve como bacteriostático para *Salmonella* spp.

O objetivo do presente estudo foi analisar o efeito do tratamento com EC antes e após a infecção experimental por *Salmonella* Enterititis sobre a integridade da mucosa intestinal de pintos de corte durante a primeira semana de vida.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves e Tratamentos

O presente experimento foi realizado entre os meses de junho e julho de 2006 nos Laboratórios de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Veterinária e Histologia/Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

Foram utilizados 128 pintos recém-eclodidos (64 machos e 64 fêmeas) de linhagem de corte (Cobb® 500), provenientes de matrizes com 32 semanas de idade. Inicialmente foram realizados suabes do mecônio das caixas, para confirmar ausência de *Salmonella* Enteritidis*.* O sexo das aves foi confirmado pela análise das gônadas, as quais estão presentes em número par nos machos e ímpar nas fêmeas. As aves foram divididas em 2 grupos, machos e fêmeas, e para cada sexo separadas em 4 outros tratamentos com 4 repetições de 16 aves:

- **NI**: não infectados com *Salmonella* Enteritidis (Controle);
- **I**: infectados com *Salmonella* Enteritidis;
- **IEC:** infectados com *Salmonella* Enteritidis e tratados com exclusão competitiva (EC) 24 h após infecção;
- **ECI**: tratados com EC e infectados com *Salmonella* Enteritidis 24 h após tratamento

Todas as aves foram acondicionadas em caixas de madeira teladas, previamente desinfetadas, em sala climatizada à 33^{o}C. Elas foram alimentadas com água e ração (22% PB, 2.900 Kcal EM/Kg, isenta de antimicrobianos e anticoccidianos) "*ad libitum*". A cama composta de maravalha foi autoclavada antes do uso.

Os pintos foram analisados quanto a parâmetros intestinais com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção, sendo utilizados 4 pintos por grupo, um de cada repetição, considerando-se cada ave uma parcela. Os animais foram sacrificados por meio de deslocamento cervical e durante a necropsia foi coletado as três regiões do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) para mensurações dos parâmetros intestinais.

Bactéria, Inoculação e Contagem de Colônias

Foi utilizado um mutante espontâneo de *Salmonella* Enteritidis, resistente ao ácido nalidíxico e a espectinomicina (SE NalSpec), mantido pelo Laboratório de Ornitopatologia da FCAV-Unesp de Jaboticabal.

A cultura e o inóculo foram preparados seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000), como segue: a cultura foi preparada em caldo nutriente (OXOID CM 67) e incubada sob agitação (100 movimentos/minuto) a 37°C durante 24 horas. O inóculo foi preparado a partir desta cultura ($1,2 \times 10^9$ células viáveis por mL de cultivo), diluindo-se 1mL de cultura (1:1000) em caldo nutriente. Foi realizada administração esofágica de 100 µL de SE NalSpec por ave, utilizando-se uma cânula. Para contagem de *Salmonella* seguiu o modelo empregado por BARROW *et al*. (1987), como descrito a seguir: colheu-se o conteúdo cecal, que foi diluído a 1:10 em solução salina tamponada (PBS pH 7,4). Em seguida, 0,1mL desta suspensão foi submetida a 5 diluições decimais seriadas (até $1:10^6$). Foi plaqueado 0,1ml de cada uma das diluições em ágar verde brilhante contendo ácido nalidíxico (100µg/mL) e espectinomicina (100µg/mL). A contagem das colônias foi realizada após 24 horas de incubação a 37°C e os dados foram expressos como número de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de conteúdo cecal. Estes valores foram transformados em $\log_{10}$ para análise e interpretação dos resultados. Contagens (log10) inferiores a 2 UFC de SE foram indicativas de ausência da bactéria.

Exclusão Competitiva (EC)

Foi efetuada seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000). Uma suspensão de cultura fecal foi obtida misturando-se fezes frescas de aves adultas saudáveis com caldo nutriente (1:10 Peso/Volume). A mistura foi mantida em estufa a 37°C por 24 horas, para crescimento da microbiota intestinal. Em seguida, 0,1 mL da parte líquida foi inoculada endoesofagicamente, de forma similar à descrita no item anterior.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise da integridade dos vilos, amostras do duodeno, jejuno e íleo (3 cm de comprimento) foram abertas longitudinalmente pela borda mesentérica, estendidas pela túnica serosa e lavadas delicadamente com tampão fosfato 0,1M pH 7,4 (para retirada de restos de alimento e muco) e estiradas sobre papel. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato por 24 horas a 4°C e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1 % por 2 horas. Em seguida, elas foram lavadas com a mesma solução tampão acima citada, para retirada do fixador, e desidratadas em série de concentração crescente de etanol (50, 60, 70, 80, 90, 100%). As amostras foram, então, submetidas à obtenção do ponto crítico de secagem (BAL-TEC), fixadas e orientadas em suporte de cobre, metalizadas com ouro paládio (denton vacum desk II), e fotografados em um microscópio eletrônico de varredura (modelo Jeol JSM 25II®), pertencente ao laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV, UNESP, Jaboticabal.

A porcentagem de vilos normais (graus 0 e 1) e a porcentagem de vilos apresentando os diferentes graus de perda de epitélio/área/região do intestino foram determinadas sobre quatro eletromicrografias (com área equivalente a 1.855.213,7 μm^2) por segmento intestinal e por ave, num total de 4 aves por tratamento .

Os graus de perda de epitélio foram determinados segundo GOMIDE JR *et al* (2004) (Figura 1), como: **grau 0**, sem extrusão aparente (vilo normal); **grau 1**, pequena extrusão no ápice do vilo ou pontos de extrusão na porção apical e ao longo do vilo (vilo normal); **grau 2**, perda de epitélio com exposição do tecido conjuntivo no ápice do vilo; **grau 3**, perda de epitélio na porção apical do vilo e exposição do tecido conjuntivo, assemelhando-se à extremidade de uma língua; **grau** 4, perda do epitélio de metade do vilo com exposição do tecido conjuntivo; **grau 5**, perda total do epitélio com exposição total do tecido conjuntivo do interior do vilo, assemelhando a uma língua totalmente exposta; e **grau 6**, perda do tecido conjuntivo e conseqüente perda do vilo (vilo quebrado).

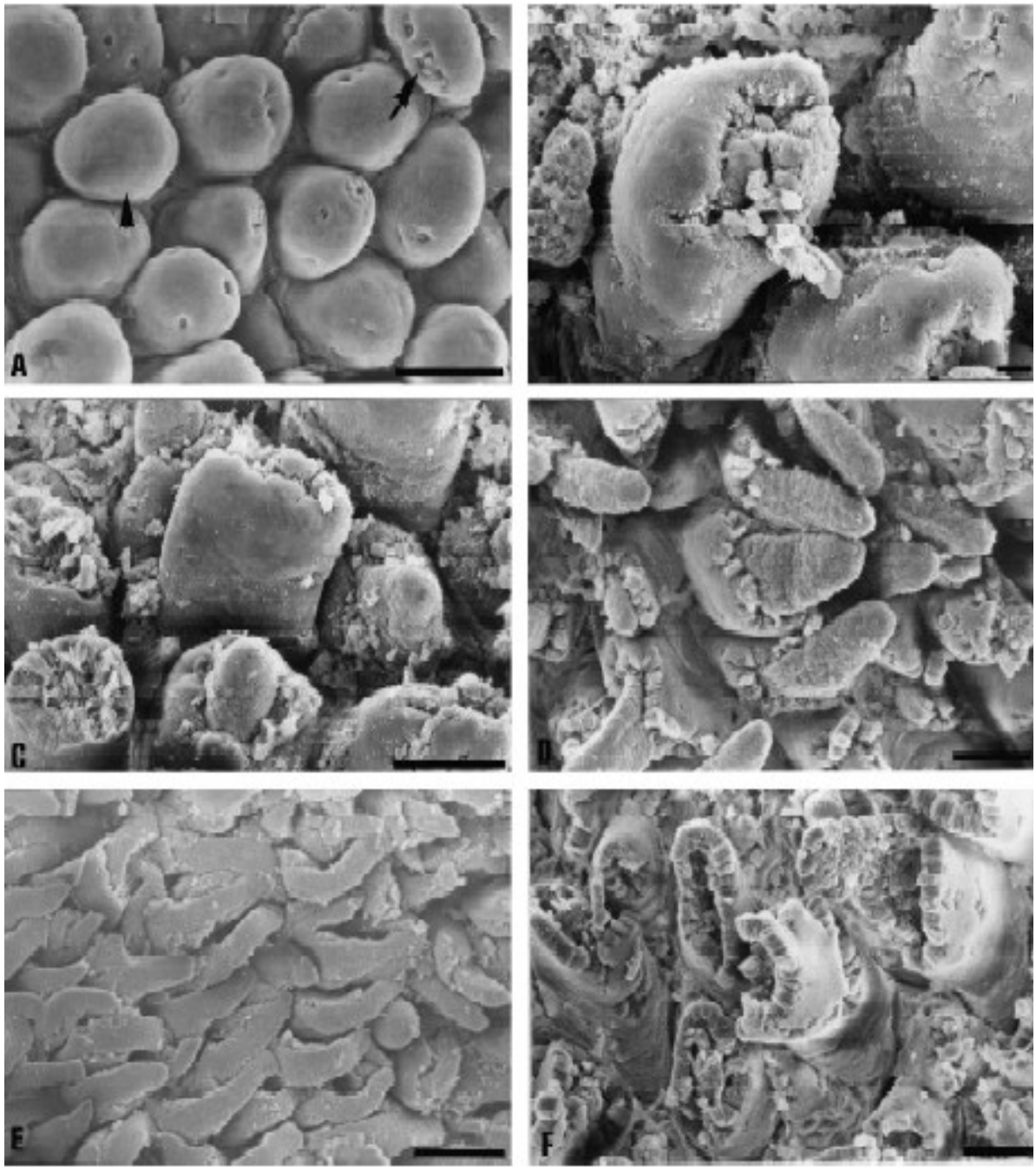


Figura 1. A – F: Graus de perda de epitélio em vilos intestinais de pintos. A: graus 0 e 1, B: grau 2, C: grau 3, D: grau 4, E: grau 5 e F: grau 6. Barras: A, C, D e F = 50μm; B = 10μm; F = 100μm (GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004)

Microscopia de Luz

A presença de células apoptóticas foi analisada sobre cortes histológicos para microscópica de luz. Para isso, amostras (2 cm de comprimento) das 3 regiões do intestino delgado foram fixadas em Dietrich (4% de formalina, 28% de etanol, 0,34N de ácido acético glacial), para serem processadas pelo método de rotina para microscopia de luz. Os cortes foram corados com hematoxilina férrica de Weigert (10mL de solução estoque de hematoxilina 10% + 90mL de água destilada + 7mL de solução saturada de carbonato de lítio) e contrastados com eosina.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) disposto em um arranjo fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos (machos e fêmeas) e 4 o número de tratamentos (NI: Não infectado, I: Infectado por SE, IEC: Infectado por SE e tratado com EC e ECI: tratado com EC e infectado por SE).

Análise estatística

Os dados referentes aos parâmetros intestinais foram submetidos, a cada dia pós-infecção, à análise de variância (ANOVA), sendo cada ave considerada como uma parcela. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Porcentagens de vilos normais

As tabelas 1 e 2 apresentam os dados referentes às porcentagens de vilos normais (Grau 0+1 de perda de epitélio) para o duodeno, jejuno e íleo.

Para o duodeno, os dados mostraram efeito significativo ($p<0,05$) do sexo no 1º e 5º dias pós-infecção e dos tratamentos nos dias 1º e 7º pós-infecção sobre as porcentagens de vilos normais (Tabela 1).

No 1º dia, as fêmeas apresentaram maior porcentagem de vilos duodenais normais do que os machos (Tabela 1). Entretanto, de acordo com a interação sexos e tratamentos (Tabela 2), isso ocorreu apenas nos pintos do tratamento ECI. Além disso, os pintos machos dos tratamentos NI, I e IEC não diferiram entre si, mas tiveram maior porcentagem de vilos duodenais normais do que os pintos do tratamento ECI, enquanto que nos pintos fêmeas não houve diferença entre nenhum dos quatro tratamentos.

No 3° dia, não houve diferença significativa entre os sexos e nem entre os tratamentos, e todas as aves apresentaram 100% de vilos normais.

No 5º dia, ao contrário do observado no 1º, a porcentagem de vilos duodenais normais foi maior nos machos do que nas fêmeas. Todavia, a interação entre sexos e tratamentos mostrou que isso ocorreu apenas para pintos dos tratamentos NI e I, pois nos dois outros tratamentos (IEC e ECI) não ocorreu diferença entre os sexos. A interação também registrou que, no 5º dia pós-infecção, as fêmeas NI, I e IEC apresentaram uma redução da porcentagem de vilos duodenais normais em comparação com as fêmeas do tratamento ECI, ao contrário dos machos que não apresentaram efeito dos tratamentos sobre esse parâmetro.

No 7º dia pós-infecção, houve efeito principal significativo ($p<0,05$) apenas dos tratamentos, sendo que os pintos do tratamento IEC não mostraram nenhum vilo duodenal normal, enquanto que os pintos dos demais tratamentos apresentaram porcentagem similares de vilos normais. Entretanto, segundo

interação sexo e tratamentos, esses dados foram encontrados apenas nos machos, pois nas fêmeas do tratamento IEC e do tratamento NI não foram registrados vilos duodenais normais. Além disso, a interação também registrou a ocorrência de maior porcentagem de vilos duodenais normais nos machos do que nas fêmeas, no tratamento NI, e maior nas fêmeas do que nos machos, no tratamento ECI.

Em relação ao jejuno, não foram registrados efeitos principais significativos ($p>0,05$) dos tratamentos e/ou sexo em nenhum dos dias pós-infecção analisados.

Entretanto, foi registrada interação significativa entre sexos e tratamentos no 5º dia pós-infecção (Tabs. 1 e 2), mostrando que nas fêmeas não houve diferenças entre os tratamentos, mas que os pintos machos do tratamento ECI apresentaram redução dos valores de vilos jejunais normais em comparação aos demais tratamentos (NI, I e IEC). Além disso, diferença entre os sexos foi registrada no tratamento ECI, sendo que os pintos machos apresentaram porcentagem menor de vilos jejunais normais do que as fêmeas.

No que se refere às porcentagens de vilos normais no íleo (Tabelas 1 e 2), houve efeito significativo ($p<0,05$) dos tratamentos e interação significativa ($p<0,05$) entre sexos e tratamentos apenas no 5º dia pós-infecção, bem como efeitos significativos dos sexos e tratamentos no 7º dia pós-infecção.

No 5º dia, os pintos dos tratamentos I, IEC e ECI tiveram porcentagens similares de vilos normais no íleo, mas maiores do que as observadas para as aves do tratamento NI. Todavia, segundo interação sexos e tratamentos (Tabela 2), isso ocorreu apenas nos pintos fêmeas. Além disso, a diferença entre os sexos foi registrada apenas no tratamento NI, sendo que os machos apresentaram maior porcentagem de vilos ilíacos normais do que as fêmeas. No 7º dia pós-infecção, a porcentagem de vilos ilíacos normais foi maior nos machos do que as fêmeas, e menor nos pintos do tratamento IEC do que nos demais tratamentos, os quais não diferiram entre si para este parâmetro.

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre a porcentagem de vilos normais da mucosa do duodeno, jejuno e íleo em pintos de corte.Jaboticabal, 2006

	1º	3º	5º	7º
Duodeno				
Sexo (S)				
M	81,30 b	100,00 a	54,20 a	43,80 a
F	100,00 a	100,00 a	14,50 b	48,80 a
Tratamentos (T)				
NI	100,00 a	100,00 a	33,40 a	50,00 a
I	100,00 a	100,00 a	52,10 a	77,00 a
IEC	100,00 a	100,00 a	12,50 a	0,00 b
ECI	62,50 b	100,00 a	39,40 a	58,00 a
Probabilidade				
S	0,0060 *	0,9999 ^{ns}	0,0030 *	0,6620 ^{ns}
T	0,0000 *	0,9999 ^{ns}	0,1480 ^{ns}	0,0010 *
S x T	0,0000 *	0,9999 ^{ns}	0,0060 *	0,0000 *
C.V. (%)[1]	13,67	11,24	16,54	11,98
Jejuno				
Sexo (S)				
M	100,00 a	99,44 a	84,50 a	42,80 a
F	99,78 a	99,09 a	79,40 a	45,70 a
Tratamentos (T)				
NI	99,59 a	100,00 a	75,00 a	28,90 a
I	99,96 a	97,00 a	92,00 a	60,50 a
IEC	99,99 a	100,00 a	93,00 a	50,00 a
ECI	100,00 a	100,00 a	67,00 a	37,50 a
Probabilidade				
S	0,2940 ^{ns}	0,7510 ^{ns}	0,6250 ^{ns}	0,8630 ^{ns}
T	0,4450 ^{ns}	0,1560 ^{ns}	0,2210 ^{ns}	0,5780 ^{ns}
S x T	0,4330 ^{ns}	0,9560 ^{ns}	0,0230 *	0,1060 ^{ns}
C.V. (%)[1]	16,78	10,97	9,37	11,74
Íleo				
Sexo (S)				
M	90,00 a	100,00 a	98,90 a	84,10 a
F	100,00 a	98,31 a	85,80 a	66,90 b
Tratamentos (T)				
NI	100,00 a	100,00 a	69,50 b	100,00 a
I	80,10 a	98,80 a	100,00 a	95,00 a
IEC	100,00 a	97,90 a	100,00 a	18,30 b
ECI	100,00 a	100,00 a	100,00 a	88,80 a
Probabilidade				
S	0,1160 ^{ns}	0,1840 ^{ns}	0,0540 ^{ns}	0,0290 *
T	0,0720 ^{ns}	0,5560 ^{ns}	0,0050 *	0,0000 *
S x T	0,0720 ^{ns}	0,5560 ^{ns}	0,0170 *	0,3590 ^{ns}
C.V. (%)[1]	12,09	8,74	15,67	13,57

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias com letras distintas (colunas) diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 2. Interação entre sexos e tratamentos para o número de vilos por área e porcentagem de vilos normais da mucosa do duodeno, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção. Jaboticabal, 2006.

		NI	I	IEC	ECI
Duodeno					
1º DPI	**M**	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	25,00 Bb
	F	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
5º DPI	**M**	66,75 Aa	100,00 Aa	25,00 Aa	25,00 Aa
	F	0,00 Bb	4,25 Bb	0,00 Ba	53,75 Aa
7º DPI	**M**	100,00 Aa	50,00 Aa	0,00 Ba	25,00 Ab
	F	0,00 Bb	78,50 Aa	0,00 Ba	91,50 Aa
Jejuno					
5º DPI	**M**	100,00 Aa	100,00 Aa	95,50 Aa	42,75 Bb
	F	50,00 Aa	85,00 Aa	91,30 Aa	91,25 Aa
Íleo					
5º DPI	**M**	95,75 Aa	100 Aa	100 Aa	100 Aa
	F	43,25 Bb	100 Aa	100 Aa	100 Aa

A-B, a – b: Médias seguidas de letras distintas (linhas e colunas, respectivamente) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea; NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Porcentagens de vilos de acordo com os graus de perda de epitélio

A caracterização geral e percentual dos graus de perda de epitélio apresentados pelos vilos do duodeno, jejuno e íleo, de pintos machos e fêmeas, são mostrados nas tabelas 3 e 4, 5 e 6, e 7 e 8, respectivamente.

No 1º dia pós-infecção, os pintos machos e fêmeas de todos os tratamentos apresentaram 100 % de vilos duodenais normais, exceção feita aos pintos machos do tratamento ECI, os quais apresentaram 75 % de vilos alterados, sendo 50 % de grau 2 e 25 % de grau 3.

No 3º dia pós-infecção, os pintos de todos os tratamentos, em ambos os sexos, apresentaram 100 % de vilos duodenais normais, valendo ressaltar que os pintos machos do tratamento ECI que apresentavam apenas 25% de vilos normais no 1º dia pós-infecção, passaram a apresentar 100% de vilos normais, caracterizando um processo regenerativo da mucosa do duodeno, do 1º para o 3º dia pós-infecção.

No 5º dia pós-infecção, nos machos dos tratamentos NI, IEC e ECI ocorreu perda de epitélio graus 2 e/ou 3, enquanto que nas fêmeas apenas do tratamento IEC a porcentagem de vilo duodenal com grau 3 foi alta. Todavia, os pintos fêmeas dos tratamentos NI e IEC não apresentaram vilos duodenais normais e tiveram alta porcentagem de vilos duodenal com perda de epitélio grau 2. Já nos machos, os pintos do tratamento I tiveram baixa taxa de vilos normais e altas porcentagens de vilos com perda de epitélio grau 2 e grau 3. Por sua vez, os pintos machos do tratamento ECI apresentaram alta taxa de vilos duodenais normais e com grau 2 de perda de epitélio e baixa taxa de vilo com perda de epitélio grau 3. Essa perda de epitélio registrada no 5º dia em todos os tratamentos e em ambos os sexos, exceção feita aos machos do tratamento I, provavelmente indicam que a taxa de extrusão do epitélio intestinal está maior que a taxa de atividade mitótica da região de transição cripta-vilo, cujas células são impelidas para o topo do vilo.

Já no 7º dia pós-infecção, os pintos machos (Tabela 3) do tratamento NI apresentaram todos os vilos duodenais normais. Por sua vez, os pintos machos

do tratamento I apresentaram 50% dos vilos com grau 2, os do tratamento ECI apresentaram vilos com grau 2 (53,50%) e 3 (21,50%), e os do tratamento IEC, mais afetados, apresentaram vilos com grau 2 (50%), 3 (1,39%), 4 (45,83%) e 6 (2,78%). Nas fêmeas (Tabela 4), os pintos do tratamento NI apresentaram-se 100% dos vilos duodenais com perda de epitélio grau 2, enquanto que os pintos dos tratamentos I e ECI apresentaram apenas 21,5 e 8,5 % de vilos com grau 2, respectivamente, e os do tratamento IEC apresentaram vilos com grau 2 (79%) e 3 (21%).

Tabela 3. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004), no duodeno de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	25,00	50,00	25,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	66,75	29,25	4,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	25,00	0,00	75,00	0,00	0,00	0,00
ECI	25,00	56,50	18,50	0,00	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	50,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	0,00	50,00	1,39	45,83	0,00	2,78
ECI	25,00	53,50	21,50	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

Tabela 4. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no duodeno de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	0,00	94,75	5,25	0,00	0,00	0,00
I	4,17	56,83	39,00	0,00	0,00	0,00
IEC	0,00	95,59	4,50	0,00	0,00	0,00
ECI	53,80	42,25	3,95	0,00	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	78,50	21,50	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	0,00	79,00	21,00	0,00	0,00	0,00
ECI	91,48	8,52	0,00	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

Em relação ao jejuno, verificou-se que no 1º e 3º dias pós-infecção, praticamente todas as aves de ambos os sexos e de todos os tratamentos apresentaram 100% de vilos jejunais normais. Apenas os pintos infectados (I) e de ambos os sexos apresentaram uma pequena percentagem de vilos com perda de epitélio grau 2.

Já no 5º dia pós-infecção, os pintos machos do tratamento ECI apresentaram vilos jejunais com grau 2 (32,25 %), 3 (22,50%) e 4 (2,05%), enquanto que os machos dos demais tratamentos apresentaram 100% de vilos jejunais normais. Nas fêmeas, vilos jejunais com perda de epitélio grau 2 foram observados nos tratamentos I (15%), IEC (8,7%) e ECI (8,75%), enquanto que no tratamento NI foram registrados apenas vilos normais (100 %).

Por sua vez, no 7º dia pós-infecção, os pintos machos do tratamento NI apresentaram 50% de vilos jejunais com perda de epitélio grau 2, os do tratamento I tiveram vilos com grau 2 (24,24%) e 3 (4,76), os do tratamento IEC tiveram metade dos vilos do com grau 4, e os do tratamento ECI apresentaram 100% de vilos alterados (89,9 % de grau 2 e 10,10% de grau 3). Em relação às fêmeas, no tratamento NI foi registrado cerca de 41 % de vilos jejunais com perda de epitélio grau 2, nos tratamentos I e IEC foram 50% de vilos alterados (grau 4 para o tratamento I e grau 2 para o tratamento IEC), e no tratamento ECI apenas 25% de vilos eram alterados e todos de grau 2.

Tabela 5. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no jejuno de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	97,75	2,25	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	42,75	32,25	22,50	2,50	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	50,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	71,00	24,24	4,76	0,00	0,00	0,00
IEC	50,00	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00
ECI	0,00	89,81	10,19	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

Tabela 6. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no jejuno de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	96,30	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	85,00	15,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	91,30	8,70	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	91,25	8,75	0,00	0,00	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	58,56	41,41	0,00	0,00	0,00	0,00
I	50,00	0,00	0,00	50,00	0,00	0,00
IEC	50,00	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	75,00	25,00	0,00	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

No íleo, no 1º dia pós-infecção, todos os tratamentos, de ambos os sexos, apresentaram 100% de vilos normais no íleo, exceção feita aos pintos machos do tratamento I, os quais apresentaram 36,21 % de vilos com grau 2 e 3,60% de vilos com grau 3.

No 3º dia pós-infecção, foi observado a regeneração tissular dos vilos ilíacos dos machos do tratamento I, ou seja, os machos de todos os tratamentos apresentaram 100% de vilos normais. Os pintos fêmeas dos tratamentos I e IEC apresentaram pequena porcentagem de vilos ilíacos com perda de epitélio grau 2 (2,5 e 4,25%, respectivamente).

Já no 5º dia pós-infecção, apenas os machos do tratamento NI apresentaram perda de epitélio grau 2 e em baixa porcentagem (4,25%) no íleo. Os machos dos demais tratamentos apresentaram 100% de vilos ilíacos normais. Nas fêmeas dos tratamentos I, IEC e ECI ocorreram 100% de vilos normais no íleo, enquanto que nos pintos do tratamento NI foram registrados cerca de 56% de vilos alterados, sendo 49% de grau 2 e 7 % de grau 3.

Por sua vez, no 7º dia pós-infecção, os machos dos tratamentos NI, I e ECI apresentaram 100% de vilos ilíacos normais, enquanto que nos machos do tratamento IEC cerca de 64% de vilos ilíacos encontravam-se alterados, sendo 13% de grau 2 e 50% grau 4. Nas fêmeas, apenas os pintos do tratamento NI apresentaram 100% de vilos ilíacos normais. Os pintos do tratamento IEC, similarmente aos machos, foram os pintos que apresentaram as maiores lesões tissulares (25% grau 3 e 75% grau 4). Ainda sobre as fêmeas, os pintos dos tratamentos I e ECI apresentaram respectivamente 10 e 25% de vilos ilíacos com perda epitelial de grau 2, respectivamente.

Tabela 7. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no íleo de pintos de corte, machos, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	60,19	36,21	3,60	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	95,75	4,25	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	36,50	13,50	0,00	50,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

Tabela 8. Porcentagens de vilos, de acordo com grau de perda de epitélio (0+1, 2, 3, 4, 5 e 6) (segundo GOMIDE JÚNIOR *et al*., 2004) no íleo de pintos de corte, fêmeas, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias), de acordo com os tratamentos (T) (NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE). Jaboticabal, 2006.

Tratamentos	Grau 0+1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5	Grau 6
1º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	97,50	2,50	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	95,75	4,25	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5º Dia pós-infecção						
NI	43,25	49,25	7,50	0,00	0,00	0,00
I	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ECI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7º Dia pós-infecção						
NI	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	90,00	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IEC	0,00	0,00	25,00	75,00	0,00	0,00
ECI	77,50	22,50	0,00	0,00	0,00	0,00

N = 4 aves/tratamento.

Presença e extensão de células apoptóticas

A presença e extensão de células apoptóticas não foi observada em nenhum dos cortes histológicos analisados, esses dados indicam que a infecção por *Salmonella* Enteritidis não induz este tipo de morte celular no epitélio intestinal das aves.

DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo mostraram que os pintos controles (NI) apresentam uma intensa renovação epitelial no duodeno a partir do 5º dia, no jejuno ao 7º dia e no íleo ao 5º dia de vida. É conhecido que o intestino apresenta alterações morfo-funcional pós-eclosão em adaptação à ração exógena ingerida, bem como em adaptação à exposição e à colonização intestinal por microbiota (KELLY et al., 1992; NOY & SKLAN, 1997; KOJIMA et al., 1999). Sendo assim, é possível que a perda acentuada de epitélio intestinal ao final da primeira semana de vida represente um processo rápido de renovação celular para aquisição de células epitelias com características morfo-funcionais adequadas à digestão e absorção, bem como proteção epitelial frente à nova digesta e colonização intestinal.

Além de registrarem uma dinâmica funcional distinta entre os segmentos intestinais, nossos dados também mostram que a dinâmica de perda de epitélio duodenal e ilíaca difere entre os sexos, o que também foi constatado por GOMIDE JR et al. (2004) para pintos em condições de jejum. No duodeno, a perda de epitélio foi mais acentuada e longa nas fêmeas do que nos machos. No íleo, ela foi focada no 5º dia, mas também foi mais acentuada nas fêmeas do que nos machos. Esses resultados indicam uma adaptação mais rápida e mais intensa do sexo feminino do que do masculino à dieta exógena, o que pode estar relacionado com o maior peso corporal registrado aos 7 dias de idade para pintos fêmeas em relação aos pintos machos.

Após a eclosão, o intestino delgado passa a ser colonizado por rica microbiota, podendo a mesma incluir agentes patogênicos ou não (FOWLER & MEAD, 1989; OLIVEIRA et al., 2000). Independentemente do sexo e do segmento intestinal, a dinâmica de renovação de epitélio intestinal apresentada pelos pintos não infectados envolveu no máximo perda de epitélio grau 2, mostrando que o processo não envolve grandes perdas de epitélio, as quais poderiam expor as aves de forma mais fácil e acentuada a patógenos entéricos.

Os pintos infectados por SE não apresentaram alterações significativas na dinâmica epitelial geral do intestino delgado em relação aos pintos não infectados, indicando ausência de efeito significativo da infecção sobre a integridade do epitélio intestinal. Considerando que o órgão de eleição para o alojamento e proliferação intestinal da SE são os cecos (DAY, 1992; ANDREATTI FILHO et al., 1993); É possível que as adaptações gastro-intestinais digestivas e de proteção frente à nova dieta e microbiota não propiciem a instalação e proliferação das mesmas no intestino delgado. Em relação aos graus de perda de epitélio, apenas do duodeno das fêmeas e no 5º dia de vida ocorreu pequena porcentagem de perda de epitélio grau 3, representativo de um efeito muito leve e focal da infecção sobre a perda de epitélio.

De acordo com os dados, pintos machos tratados com EC após a infecção por SE (IEC) mostraram alteração na dinâmica de perda ou renovação do epitélio intestinal. Em relação ao duodeno, eles apresentaram uma alteração drástica da dinâmica de renovação celular, apresentando um perfil mais acentuado (graus 2, 3 e/ou 4) e longo de perda de epitélio duodenal do que os machos não infectados. Em relação ao sexo oposto, eles mostraram um perfil similar ao apresentado pelas fêmeas do mesmo tratamento, que coincide com o das fêmeas não infectadas, porém com graus de perda de epitélio maiores (graus 3 e 4). Os pintos do tratamento IEC não apresentaram efeito do tratamento também no jejuno e íleo, segmentos nos quais apresentaram graus mais acentuados de perda de epitélio (graus 3 e/ou 4) do que os machos (grau 2) e as fêmeas (grau 2 e 3) não infectados e do que as fêmeas do mesmo tratamento (grau 2). Esses dados chamam atenção por mostrarem que o tratamento com EC após infecção aumentou a perda de epitélio pelos vilos. Considerando que a microbiota intestinal também contém organismos promotores de crescimento (ZIPRIN et al., 1993; NISBET et al., 1994; HOLLISTER et al., 1995) é possível que o tratamento por EC esteja atuando de forma direta ou indireta como acelerador do processo de renovação celular e desenvolvimento dos vilos nos pintos machos.

Os pintos machos tratados com EC antes da infecção também tiveram uma perda mais acentuada (graus 2 e 3) e longa de epitélio duodenal e jejunal do que

os pintos machos não infectados, mais acentuada do que as fêmeas de mesmo tratamentos, mas muito próxima à apresentada pelas fêmeas não infectadas. Esses dados mostram que tratamento com EC antes da infecção com SE agem sobre o epitélio intestinal de forma similar ao tratamento realizado após a infecção, reforçando a possibilidade da EC estar acelerando o processo de renovação celular nos machos, provavelmente via ação como promotor de crescimento dos vilos. Ao mesmo tempo, nossos dados também reforçam os dados de GOMIDE et al., 2004), segundo os quais o intestino dos machos seria mais susceptível à perda de epitélio do que fêmeas.

Em suma, o presente trabalho mostra que os vilos do intestino delgado dos pintos de corte apresentam um processo grande de renovação celular ao final da primeira semana de vida e que EC acelera ou acentua o processo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E.N.; BALEN, L. Efeito da via de inoculação na patogenicidade de amostras patogênica e apatogênica de *Escherichia coli* em galinha. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.45, p.475-486, 1993.

BARROW, P.A.; TUCKER, J.F.; SIMPSON, J.M. Inhibition of colonization of the chicken alimentary tract with Salmonella Typhimurium gram-negative facultatively anaerobic bacteria. **Epidemiology and Infection**, v.98, p.311-322, 1987.

BERCHIERI JR, A.; BARROW, P.A. Desenvolvimento da microbiota intestinal em pintos de corte: Prós e contras. In: CONFERÊNCIA APINCO DE TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1998, Campinas. **Anais ...** p.183-90.

DAY, C. Competitive exclusion in poultry – a review**.** Spring Lane North: **Life- Care Products**, p.2-18, 1992.

FOWLER, N.G.; MEAD, G.C. Competitive exclusion and *Salmonella* in poultry. **Veterinary Record**, v.11, p.512, 1989.

FERREIRA, A.P.; FERREIRA, C.A. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó. **Anais ...** p.56–69.

GOMIDE JR, M.H.; STERZO, E.V.; MACARI, M.; BOLELI, I.C. Use of Scanning Electron Microscopy for the Evaluation of Intestinal Epithelium Integrity. **Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science**, v.33, n.6, p. 1500-1505, 2004.

HOLLISTER, A.G.; CORRIER, D.E.; NISBET, D.J. Effect of lyophilization in sucrose plus dextran and rehydration in thioglycollate broth on performance of competitive exclusion cultures in broiler chicks. **Poultry Science**., v.74, p.586-590, 1995.

KELLY, D; McFADYEN, M.; TRAVIS, A.J. Characterization and autoradiographic localization of the epidermal growth factor receptor in the jejunum of neonatal and weaned pigs. **Reproduction Fertility Development,** v.4, p.183-191, 1992.

KOJIMA, T. et al. Developmental changes in the regional Na^+ / glucose transporter mRNA along the small intestine of sucklinf rats. **Comparative Biochemistry Physiology,** v.122, n. B, p.89-95, 1999.

MACARI, M. A fisiologia do sistema digestivo das aves (I). **Aves e Ovos**, n., p12-21,1999.

NISBET, D.J.; RICKE, S.C.; SCANLAN, C.M. Inoculation of broiler chicks with a continuous-flow derived bacterial culture facilitates early cecal bacterial colonization and increases resistance to *Salmonella typhimurium*. **Journal Food Protection**, v.57, p.12-15, 1994.

NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch development of poultry. **Journal Applied poultry Research,** v.6, p.344-354, 1997.

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **NATURE**, London, v.241, p. 210-211, 1973.

OLIVEIRA, G.H.; BERCHIERI JR.A.; BARROW, P.A. Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adults birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.116-120, 2000.

OVERTON, J.; SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **Journal of Cell Biology**, v.21, p.75-82, 1964.

PLUSKE, J.R.; WILLIANS, I. H.; AHERNE, F.X.. Maintence of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, v.62, p.131-144, 1997.

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

VISEK, W.J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**. v. 46, p. 1447-1469, 1978.

ZIPRIN, R.L.; CORRIER, D.E.; DeLOACH, J.R. Control of established *Salmonella typhimurium* intestinal colonization with *in vivo*-passaged anaerobes. **Avian Disease**,v.37,p.183-188,1993.

YAMAUCHI, K.E.; ISHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, v.32, p.67-78, 1991.

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DA MUCOSA INTESTINAL DE PINTOS DE CORTE DE AMBOS OS SEXOS SUBMETIDOS AO TRATAMENTO POR EXCLUSÃO COMPETITIVA ANTES E APÓS INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Avaliação do desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte de ambos os sexos submetidos ao tratamento por exclusão competitiva antes e após infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis

RESUMO – O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte submetidos ao tratamento por exclusão competitiva (EC) antes e após infecção experimental por Salmonella Enteritidis (SE). Foram utilizados 128 pintos, distribuídos num delineamento ao acaso com esquema fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos e 4 o número de tratamentos (NI: não infectados com SE - Controle; I: infectados com SE; IEC: infectados com SE e tratados com EC 24 h após infecção; ECI: tratados com EC e infectados com SE 24 h após tratamento). Os animais foram sacrificados com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção (dpi) para obtenção das amostras do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo). Os dados do presente trabalho mostraram que o desenvolvimento da mucosa intestinal dos pintos de corte é influenciado pelo sexo e pelos tratamentos, que os efeitos de ambos podem diferir entre os segmentos intestinais, e que os sexos podem responder de forma distinta aos tratamentos. Do ponto de vista prático, evidenciou-se que a infecção por SE influencia negativamente o crescimento dos vilos dos três segmentos intestinais na primeira semana de vida dos pintos, mas não de forma contínua, e que tratamento com EC antes da infecção evita os efeitos da infecção sobre o desenvolvimento dos vilos do duodeno e íleo.

Palavras-Chave: *Salmonella* Enteritidis, Exclusão Competitiva, Intestino, Aves.

CHAPTER 4 - EVALUATION OF INTESTINAL MUCOSA DEVELOPMENT OF YOUNG CHICKENS FROM BOTH SEXES SUBMITTED TO COMPETITIVE EXCLUSION TREATMENT BEFORE AND AFTER EXPERIMENTAL INFECTION WITH *SALMONELLA* ENTERITIDIS

Evaluation of intestinal mucosa development of young chickens from both sexes submitted to competitive exclusion treatment before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis

SUMMARY - The present experiment was carried out with the objective to evaluate the development of intestinal mucosa of young chickens submitted to competitive exclusion treatment (CE) before and after experimental infection with *Salmonella* Enteritidis (SE). 128 young chickens, distributed in completely randomized design in 4 x 2 factorial arrangement, where 2 are the number of sex and 4 the number of treatments (NI: not infection with SE - Control; I: infection with SE; ICE: infection with SE and treated with CE 24 h after infection; CEI: treated with CE and infection with SE 24 h after treatment). The animals had been sacrificed with 1, 3, 5 and 7 days post infection (dpi) for attainment of the samples from thin intestine (duodenum, jejunum and ileum). The data of the present work had shown that the intestinal mucosa development of young chickens is influenced by the sex and the treatments, that the effect of both can differ between the intestinal segments, and that the sexes can answer of distinct form to the treatments. Of the practical point of view, it was proven that the infection for SE influences in negative way the growth of the vilos from the three intestines segments in the first week of life of the young chickens, but not in continuous form, and that treatment with CE before the infection prevents the effect of the infection on the development of the vilos from duodenum and ileum.

Key-words: *Salmonella* Enteritidis, Competitive Exclusion, Intestine, Chickens.

INTRODUÇÃO

A primeira semana de vida do frango de corte equivale a 17% do tempo entre eclosão e idade de abate (42 dias). Após a eclosão, o trato gastrintestinal sofre grandes alterações morfológicas e fisiológicas, que proporcionam aumento da área de superfície de digestão e absorção intestinais (OVERTON & SHOUP, 1964). Entre essas alterações, destacam-se os aumentos no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos e, conseqüentemente, no número de enterócitos, células caliciformes e células enteroendócrinas (BARANYIOVA & HOLMAN, 1976). Esse processo decorre primariamente de dois eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação) resultantes das divisões mitóticas sofridas por células totepotentes (*stem cell*) localizadas na cripta e ao logo dos vilos (UNI, 1998), e perda de células (extrusão), que ocorre normalmente no ápice dos vilos.

Conforme mencionado por MAIORKA et al. (2002), o equilíbrio entre esses dois processos (proliferação e extrusão) possibilita a manutenção do tamanho dos vilos e, portanto, a manutenção da capacidade digestiva e absortiva. Quando o intestino responde a algum agente com um desequilíbrio da renovação celular ("turnover") a favor de um desses processos, ocorre uma modificação na altura dos vilos. Assim, se ocorrer um aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, deverá haver um aumento no número de células e, conseqüentemente, um aumento no tamanho dos vilos. Se o estímulo levar a um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição da taxa de proliferação, o intestino deverá responder com uma redução no tamanho dos vilos e, conseqüentemente, com uma diminuição em sua área de digestão e absorção.

Segundo ELIA et al. (2002), o trato gastrintestinal apresenta a maior interface do organismo com o meio externo, sendo, portanto, a porta de entrada para a maioria dos patógenos entéricos. VISEK (1978), demonstrou que, quando o trato digestório é submetido a injúrias, seja por agentes físicos, químicos ou biológicos, o organismo da ave responde a agressão por meio de um processo

inflamatório, podendo ocorrer, conseqüentemente, aumento de renovação celular, diminuição dos vilos e diminuição da atividade digestiva e absortiva. Assim, as enfermidades entéricas, além de causar a doença clínica, podem comprometer o desempenho da ave por prejudicar o desenvolvimento do trato gastrintestinal.

Dessa forma, a manutenção da integridade morfo-funcional do trato gastrintestinal é um fator importante para o controle da saúde animal e da manutenção de um alto nível de crescimento.

Exclusão Competitiva (EC) ou Conceito de "Nurmi" é um método alternativo para o controle de enfermidades entéricas e que vem mostrando-se eficaz durante anos. Ele consiste na administração intestinal de microbiota intestinal de aves adultas em aves recém eclodidas, com o intuito de excluir a presença de microrganismos indesejáveis devido à aceleração da colonização intestinal por microrganismos benéficos (NURMI & RANTALA, 1973).

O objetivo do presente estudo foi analisar o efeito do tratamento com EC antes e após a infecção experimental por *Salmonella* Enteritidis sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de pintos de corte durante a primeira semana de vida.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves e Tratamentos

O presente experimento foi realizado entre os meses de junho e julho de 2006 nos Laboratórios de Ornitopatologia do Departamento de Patologia Veterinária e Histologia/Embriologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP – Jaboticabal.

Foram utilizados 128 pintos recém-eclodidos (64 machos e 64 fêmeas) de linhagem de corte (Cobb® 500), provenientes de matrizes com 32 semanas de idade. Inicialmente foram realizados suabes do mecônio das caixas, para confirmar ausência de *Salmonella* Enteritidis*.* O sexo das aves foi confirmado pela análise das gônadas, as quais estão presentes em número par nos machos e ímpar nas fêmeas. As aves foram divididas em 2 grupos, machos e fêmeas, e para cada sexo separadas em 4 outros tratamentos com 4 repetições de 16 aves:

- **NI**: não infectados com *Salmonella* Enteritidis (Controle);
- **I**: infectados com *Salmonella* Enteritidis;
- **IEC:** infectados com *Salmonella* Enteritidis e tratados com exclusão competitiva (EC) 24 h após infecção;
- **ECI**: tratados com EC e infectados com *Salmonella* Enteritidis 24 h após tratamento

Todas as aves foram acondicionadas em caixas de madeira teladas, previamente desinfetadas, em sala climatizada à 33^{o}C. Elas foram alimentadas com água e ração (22% PB, 2.900 Kcal EM/Kg, isenta de antimicrobianos e anticoccidianos) "*ad libitum*". A cama composta de maravalha foi autoclavada antes do uso.

Os pintos foram analisados quanto a parâmetros intestinais com 1, 3, 5 e 7 dias pós-infecção, sendo utilizados 4 pintos por grupo, um de cada repetição, considerando-se cada ave uma parcela.

Os animais foram sacrificados por meio de deslocamento cervical e durante a necropsia foi coletado as três regiões do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) para mensurações dos parâmetros intestinais.

Bactéria, Inoculação e Contagem de Colônias

Foi utilizado um mutante espontâneo de *Salmonella* Enteritidis, resistente ao ácido nalidíxico e a espectinomicina (SE NalSpec), mantido pelo Laboratório de Ornitopatologia da FCAV-Unesp de Jaboticabal.

A cultura e o inóculo foram preparados seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000), como segue: a cultura foi preparada em caldo nutriente (OXOID CM 67) e incubada sob agitação (100 movimentos/minuto) a 37°C durante 24 horas. O inóculo foi preparado a partir desta cultura ($1,2 \times 10^9$ células viáveis por mL de cultivo), diluindo-se 1mL de cultura (1:1000) em caldo nutriente. Foi realizada administração esofágica de 100 µL de SE NalSpec por ave, utilizando-se uma cânula. Para contagem de *Salmonella* seguiu o modelo empregado por BARROW *et al*. (1987), como descrito a seguir: colheu-se o conteúdo cecal, que foi diluído a 1:10 em solução salina tamponada (PBS pH 7,4). Em seguida, 0,1mL desta suspensão foi submetida a 5 diluições decimais seriadas (até $1:10^6$). Foi plaqueado 0,1ml de cada uma das diluições em ágar verde brilhante contendo ácido nalidíxico (100µg/mL) e espectinomicina (100µg/mL). A contagem das colônias foi realizada após 24 horas de incubação a 37°C e os dados foram expressos como número de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de conteúdo cecal. Estes valores foram transformados em $\log_{10}$ para análise e interpretação dos resultados. Contagens (log10) inferiores a 2 UFC de SE foram indicativas de ausência da bactéria.

Exclusão Competitiva (EC)

Foi efetuada seguindo a metodologia adotada por OLIVEIRA *et al.* (2000). Uma suspensão de cultura fecal foi obtida misturando-se fezes frescas de aves adultas saudáveis com caldo nutriente (1:10 Peso/Volume). A mistura foi mantida em estufa a 37°C por 24 horas, para crescimento da microbiota intestinal. Em seguida, 0,1 mL da parte líquida foi inoculada endoesofagicamente, de forma similar à descrita no item anterior.

Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a análise da densidade dos vilos, amostras do duodeno, jejuno e íleo (3 cm de comprimento) foram abertas longitudinalmente pela borda mesentérica, estendidas pela túnica serosa e lavadas delicadamente com tampão fosfato 0,1M pH 7,4 (para retirada de restos de alimento e muco) e estiradas sobre papel. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato por 24 horas a 4°C e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1 % por 2 horas. Em seguida, elas foram lavadas com a mesma solução tampão acima citada, para retirada do fixador, e desidratadas em série de concentração crescente de etanol (50, 60, 70, 80, 90, 100%). As amostras foram, então, submetidas à obtenção do ponto crítico de secagem (BAL-TEC), fixadas e orientadas em suporte de alumínio ou cobre, metalizadas com ouro paládio (denton vacum desk II), e fotografados em um microscópio eletrônico de varredura (modelo Jeol JSM 25II®), pertencente ao laboratório de Microscopia Eletrônica da FCAV, UNESP, Jaboticabal.

O número total de vilos por área (densidade de vilos) foram determinadas sobre quatro eletromicrografias (com área equivalente a 1.855.213,7 μm^2) por segmento intestinal e por ave, num total de 4 aves por tratamento .

Microscopia de Luz

Para as análises da altura de vilo e profundidade de cripta, amostras (2 cm de comprimento) das 3 regiões do intestino delgado foram abertas longitudinalmente pela borda mesentérica, estendidas pela túnica serosa, e fixadas, imediatamente, em solução de Bouin por 36 horas. Em seguida, as amostras foram lavadas em álcool 70% para a retirada do fixador e desidratadas em série crescente de etanol, diafanizadas em xilol e incluídas em histotec, seguindo o método de rotina para microscopia de luz. De cada segmento intestinal foram realizados e analisados 8 cortes histológicos seriados (5-6µm de espessura), corados com HE. Foram realizadas 30 mensurações de vilo e 30 de cripta por segmento intestinal por ave.

Os dados morfométricos de altura dos vilos e profundidade das criptas intestinais (em µm) foram obtidos utilizando-se um sistema de captura e análise de imagem (Leica).

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) disposto em um arranjo fatorial 2 x 4, onde 2 é o número de sexos (machos e fêmeas) e 4 o número de tratamentos (NI: Não infectado, I: Infectado por SE, IEC: Infectado por SE e tratado com EC e ECI: tratado com EC e infectado por SE).

Analise estatística

Os dados referentes aos parâmetros intestinais foram submetidos, a cada dia pós-infecção, à análise de variância (ANOVA), sendo cada ave considerada como uma parcela. A comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Densidade dos vilos duodenais, jejunais e ilíacos

As tabelas 1 e 2 e as Figuras 1-4 apresentam os dados referentes à densidade de vilos duodenais.

A densidade dos vilos duodenais apresentou efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos e dos tratamentos apenas no 7º e no 5º dia pós-infecção, respectivamente, e interação significativa ($p>0,05$) entre sexos e tratamentos no 1º dia pós-infecção (Tabela 1).

Assim, do 1º ao 5º dia de vida não foram observadas diferenças na densidade dos vilos entre machos e fêmeas (Tabela 1, Figuras 1-3). No 7º dia pós-infecção, entretanto, houve diferença entre os sexos, sendo que os machos apresentaram maior densidade de vilos do que as fêmeas (Tabela 1, Figura 4). Contudo, segundo interação significativa entre sexos e tratamentos (Tabela 2), no 1º dia pós-infecção também ocorreu diferença entre os sexos, mas apenas nos pintos do tratamento ECI, no qual os pintos fêmeas tiveram maior densidade de vilos do que os machos (Figuras 1D e 1H). Esses dados mostraram que ocorre uma resposta sexo-dependente sobre o desenvolvimento da mucosa do duodeno na primeira semana de vida, mas que a ocorrência da mesma não é uma característica contínua.

Em relação aos tratamentos, no 5º dia pós-infecção, os pintos do tratamento NI apresentaram maior ($p<0,05$) densidade de vilos do que os pintos dos outros três tratamentos (I, IEC e ECI)(Tabela 1). Segundo MACARI (1999), uma menor contagem de vilos por área indica um maior desenvolvimento do vilo. Todavia, as análises das fotomicrografias de varredura referentes à mesma idade (Figura 3) mostraram que os vilos duodenais das aves dos tratamentos I, IEC e ECI apresentaram um maior distanciamento entre eles. Considerando que as aves dos tratamentos I, IEC e ECI (presente trabalho) receberam inóculos bacterianos, nossos dados parecem indicar que a presença do agente infeccioso, com ou sem tratamento com EC, prejudicou o desenvolvimento da mucosa duodenal, ou seja,

que os inóculos bacterianos agiram momentaneamente como agentes anti-tróficos sobre a mucosa intestinal. O efeito dos tratamentos, entretanto, foi focal e não foi mais registrado a partir do 7º dia pós-infecção. Todavia é interessante notar que o efeito da infecção, com ou sem EC, sobre a densidade de vilos ocorreu exatamente no período correspondente à redução significativa do número de vilos das aves controles, ou seja, do 3º para o 5º dia. Esses dados traduzem um crescimento dos vilos dos pintos controles e, mais uma vez, indicam que os agentes de infecção agiram negativamente sobre o crescimento dos vilos, possivelmente inibindo a proliferação celular, que, ocorre nas criptas e ao longo dos vilos (UNI et al., 1998; APPLEGATE et al., 1994).

Em relação ao jejuno, os dados sobre a densidade de vilos são mostrados nas Tabelas 1 e 2 e nas Figuras 5-8. Não foram registrados efeitos significativos ($p>0,05$) dos sexos sobre a densidade de vilos jejunais em nenhuma das idades analisadas (Tabela 1 e Figuras 5-8) e nem interação entre sexos e tratamentos. Todavia, houve influência significativa ($p<0,05$) dos tratamentos sobre a densidade de vilos jejunais, mas apenas no 5º dia pós-infecção.

Assim, no 5º dia pós-infecção, as aves do tratamento ECI apresentaram redução na densidade de vilos jejunais em relação aos outros tratamentos (NI, I e ECI), que não diferiram entre si para este parâmetro. Considerando a relação existente entre densidade e tamanho de vilos (MACARI, 1999; MAIORKA et al., 2002), esses dados registram um maior desenvolvimento dos vilos jejunais nos pintos do tratamento ECI. O desenvolvimento da mucosa intestinal pode ser estimulado pela ação de agentes tróficos, os quais estimulam a proliferação celular resultante em aumento do tamanho dos vilos (MAIORKA et al. (2002). Neste contexto, nossos dados sugerem uma ação trófica da administração pré-infecção do inóculo sobre a mucosa do jejuno (Figuras 7D e 7H).

Os dados sobre a densidade de vilos no íleo constam das tabelas 1 e 2 e figuras 9-12.

De acordo com os dados, houve efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos sobre a densidade de vilos no íleo apenas no 7º dia, e dos tratamentos no 1º e 7º

dias pós-infecção. Além disso, houve interação significativa entre sexos e tratamentos no 1º e 7º dias (Tabelas 1 e 2).

No 1º dia, segundo a interação entre sexos e tratamentos, houve diferenças entre os sexos no tratamento ECI, sendo que os machos apresentaram maior densidade de vilos do que as fêmeas. Além disso, também ocorreu redução na densidade de vilos nos pintos fêmeas do tratamento ECI em relação aos demais tratamentos (Tabelas 1 e 2, Figura 9).

No 3º e 5º dias de vida não foram constatadas diferenças entre os sexos e nem entre os tratamentos (Tabelas 1 e 2, Figuras 10 e 11). Entretanto, no 7º dia pós-infecção, machos apresentaram maior densidade de vilos do que as fêmeas, nos pintos infectados, com ou sem EC (I, IEC e ECI). Além disso, não houve diferença entre os tratamentos para os pintos machos, mas as fêmeas do tratamento I tiveram menor densidade de vilos do que as fêmeas dos outros três tratamentos (Tabelas 1 e 2, Figura 12).

Esses dados mostram que também no íleo diferenças na densidade de vilos entre os sexos ocorrem de forma focal e não contínua. Por outro lado, o fato dos machos infectados, com ou sem EC, terem apresentado maior densidade de vilos ilíacos do que as fêmeas sugere um efeito maior da infecção sobre os mesmos e uma maior sensibilidade dos machos ao agente infeccioso do que as fêmeas. Maior sensibilidade dos machos do que ás fêmeas à tratamentos também foram registrados para pintos de corte por GOMIDE JR et al. (2004).

Os resultados do presente estudo referentes a densidade de vilos também mostraram que o crescimento dos vilos dos três segmentos intestinais são influenciados de forma distinta pela infecção com SE e tratamento com EC.

Tabela 1. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre o número de vilos por área da mucosa do duodeno, jejuno e íleo.Jaboticabal, 2006.

	1º	3º	5º	7º
	Duodeno			
Sexo (S)				
M	30,60 a	33,20 a	22,40 a	21,19 a
F	33,40 a	30,30 a	20,80 a	15,81 b
Tratamentos (T)				
NI	32,00 a	27,10 a	26,10 a	21,60 a
I	35,00 a	29,60 a	19,00 b	18,30 a
IEC	28,40 a	30,60 a	20,50 b	17,00 a
ECI	32,60 a	29,60 a	20,80 b	17,10 a
Probabilidade				
S	0,1500 ^{ns}	0,2090 ^{ns}	0,3890 ^{ns}	0,0000 *
T	0,1150 ^{ns}	0,1000 ^{ns}	0,0470 *	0,0630 ^{ns}
S x T	0,0420 *	0,1240 ^{ns}	0,1990 ^{ns}	0,1480 ^{ns}
C.V. (%)[1]	16,05	14,98	11,65	14,15
	Jejuno			
Sexo (S)				
M	79,00 a	51,40 a	33,30 a	26,70 a
F	75,50 a	45,70 a	31,90 a	28,30 a
Tratamentos (T)				
NI	70,80 a	50,50 a	36,30 a	28,30 a
I	68,40 a	55,80 a	33,50 a	29,00 a
IEC	82,30 a	47,00 a	36,10 a	27,10 a
ECI	87,60 a	41,00 a	24,50 b	25,60 a
Probabilidade				
Sexo (S)	0,6720 ^{ns}	0,1630 ^{ns}	0,6170 ^{ns}	0,3330 ^{ns}
Tratamentos (T)	0,3080 ^{ns}	0,0920 ^{ns}	0,0110 *	0,5070 ^{ns}
S x T	0,1030 ^{ns}	0,7510 ^{ns}	0,1210 ^{ns}	0,1180 ^{ns}
C.V. (%)[1]	16,91	17,24	10,99	13,42
	Íleo			
Sexo (S)				
M	56,50 a	57,70 a	45,60 a	36,40 a
F	64,50 a	57,40 a	46,60 a	31,80 b
Tratamentos (T)				
NI	77,30 a	58,40 a	44,90 a	32,00 ab
I	64,40 ab	60,30 a	47,30 a	26,50 b
IEC	56,00 ab	61,10 a	42,60 a	44,80 a
ECI	44,40 b	50,50 a	49,80 a	33,10 ab
Probabilidade				
Sexo (S)	0,1880 ^{ns}	0,9460 ^{ns}	0,7320 ^{ns}	0,0250 *
Tratamentos (T)	0,0050 *	0,1850 ^{ns}	0,3570 ^{ns}	0,0000 *
S x T	0,0030 *	0,5900 ^{ns}	0,5220 ^{ns}	0,0000 *
C.V. (%)[1]	9,98	14,68	19,21	12,34

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias distintas diferem pelo teste de Tukey (p = 0,05).

Tabela 2. Interação entre sexos e tratamentos para o número de vilos por área da mucosa do duodeno e íleo, em pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção. Jaboticabal, 2006.

		NI	I	IEC	ECI
Duodeno					
1º DPI	**M**	34,00 Aa	35,25 Aa	26,25 Aa	27,00 Ab
	F	30,00 Aa	34,75 Aa	30,50 Aa	38,25 Aa
Íleo					
1º DPI	**M**	71,00 Aa	63,00 Aa	54,25 Aa	57,75 Aa
	F	83,50 Aa	65,75 Aa	67,75 Aa	31,00 Bb
7º DPI	**M**	35,25 Aa	36,25 Aa	54,50 Aa	39,75 Aa
	F	28,75 Aa	16,75 Bb	35,00 Ab	26,50 Ab

A-B, a – b: Médias seguidas de letras distintas (linhas e colunas, respectivamente) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: macho, F: fêmea; NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

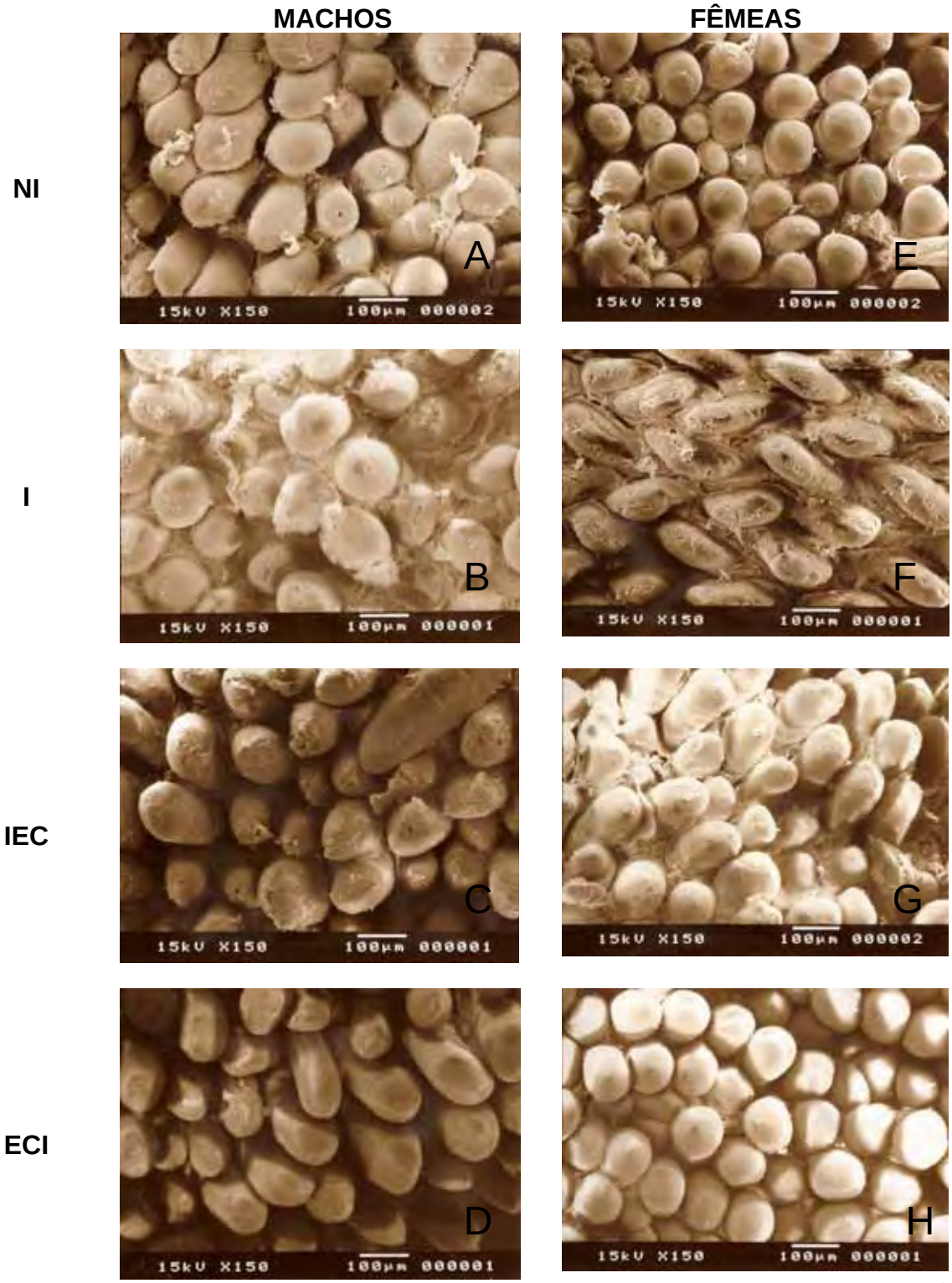


Figura 1. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

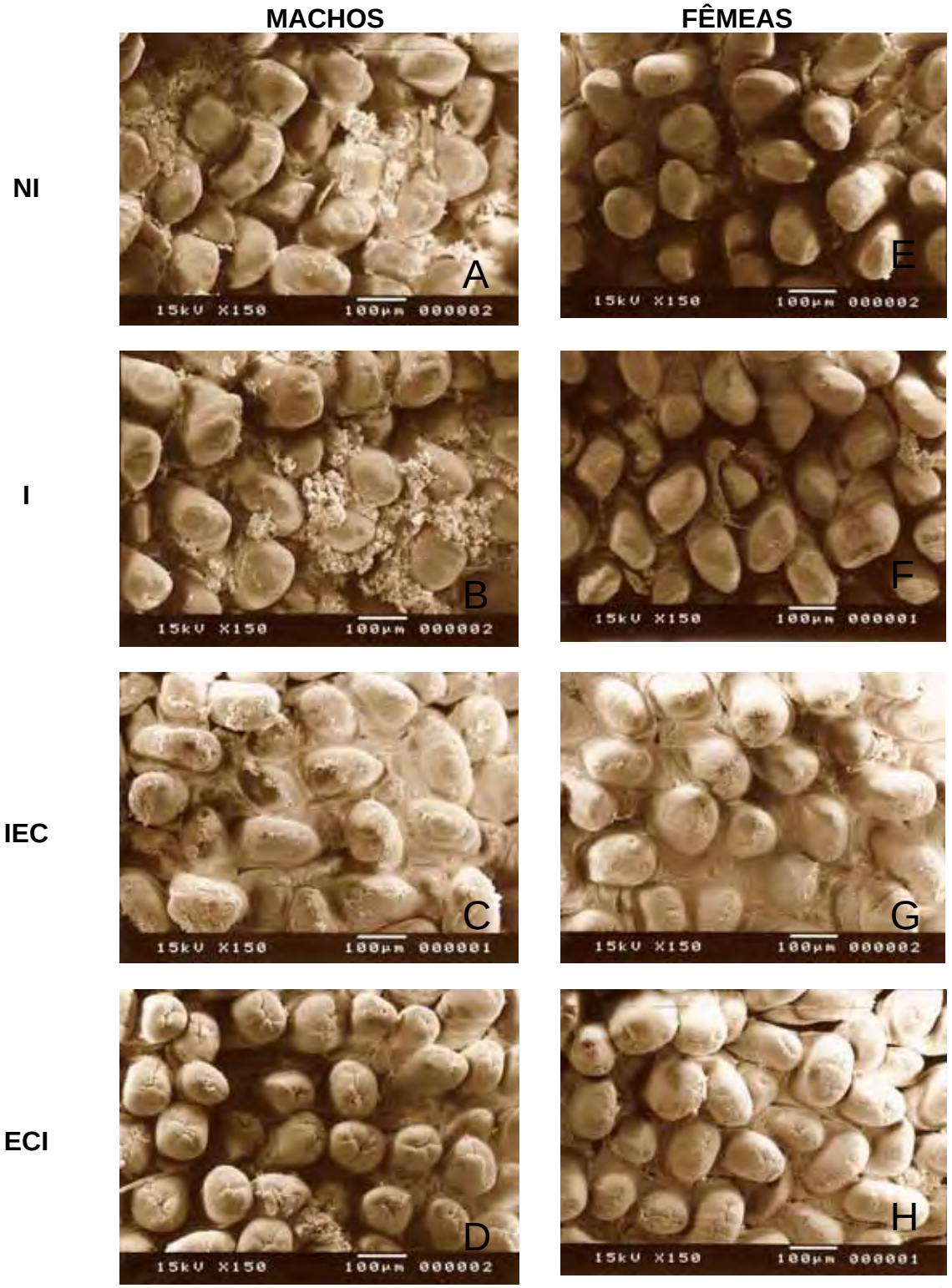


Figura 2. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

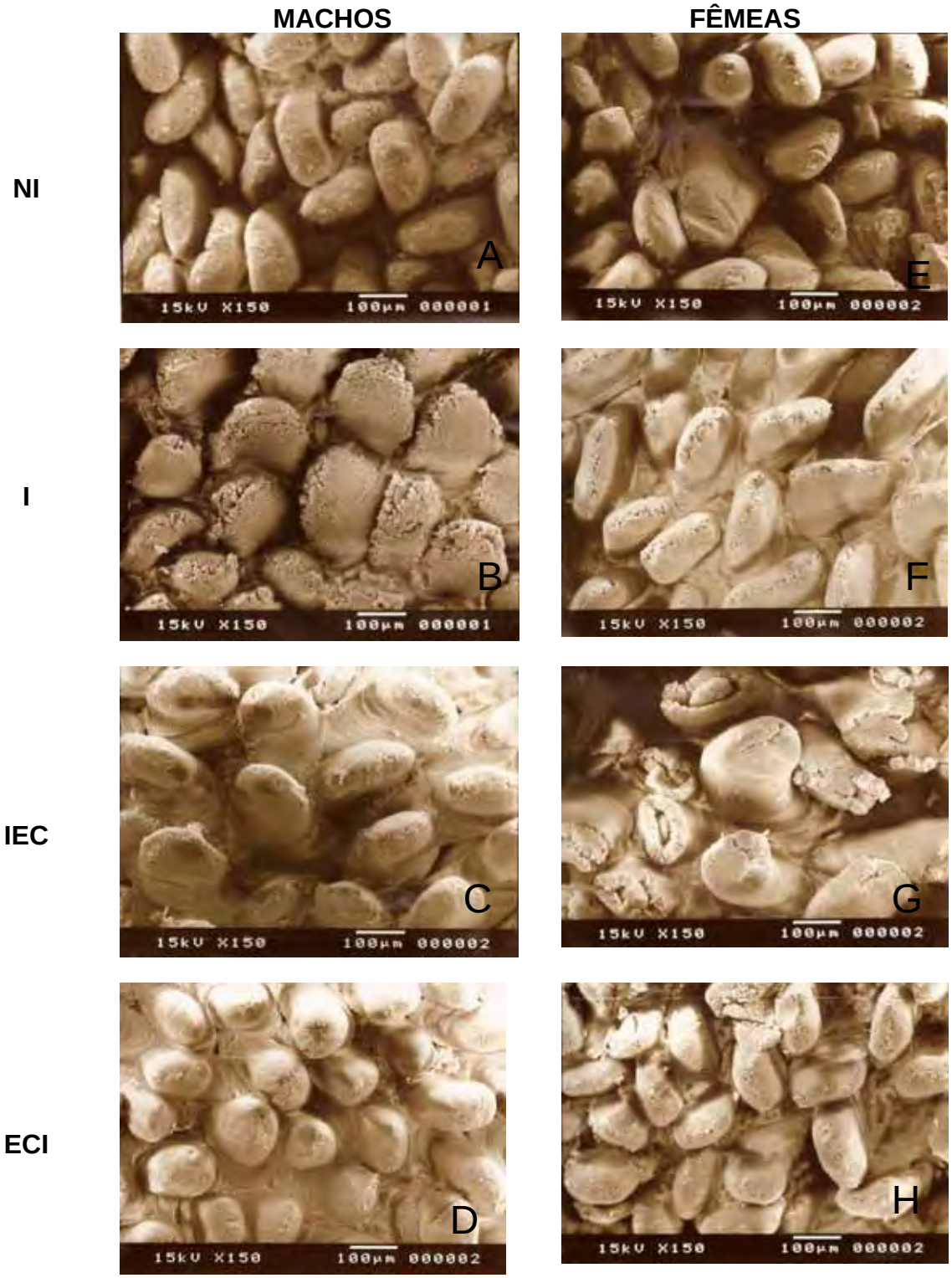


Figura 3. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

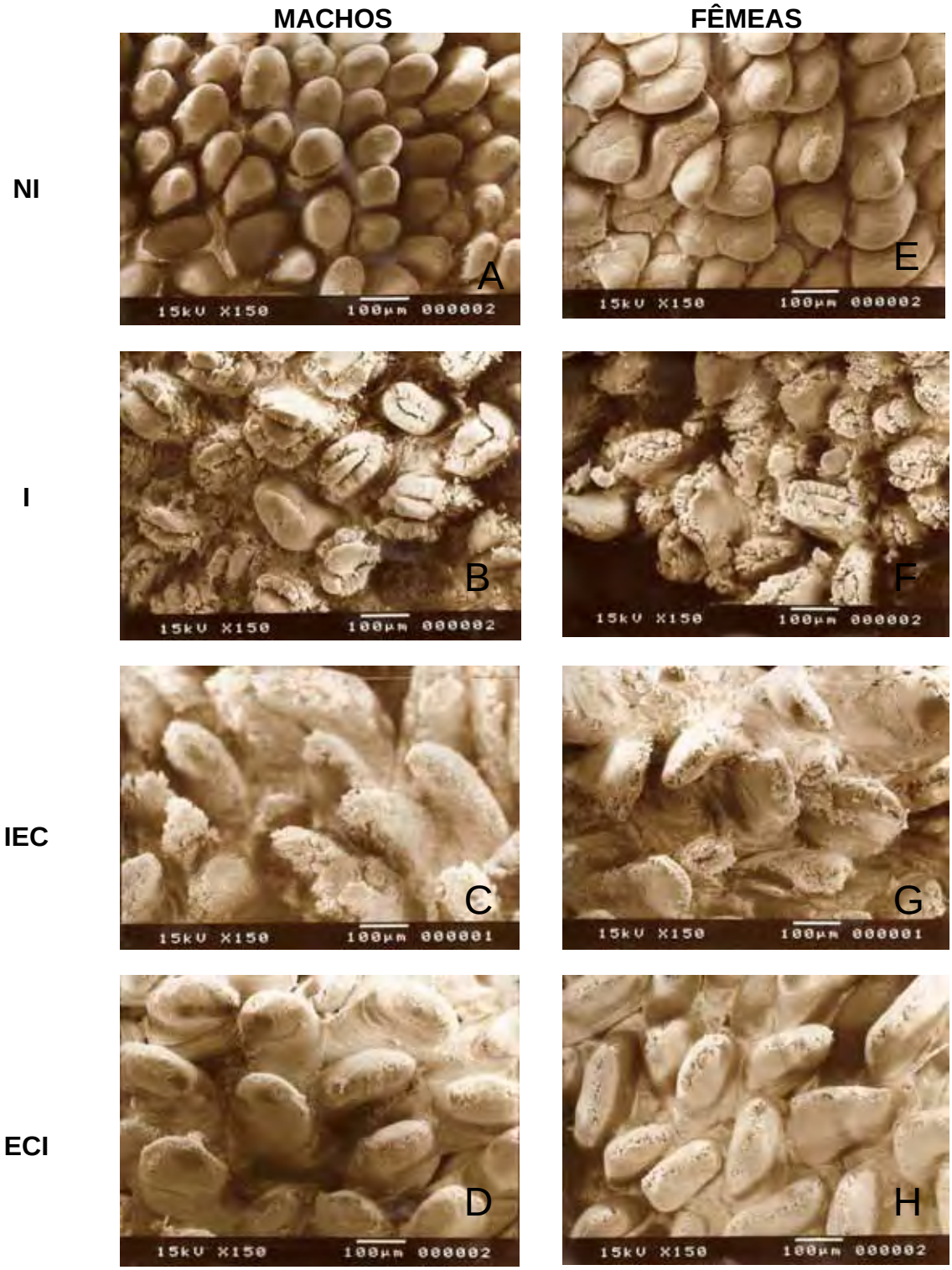


Figura 4. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do duodeno no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

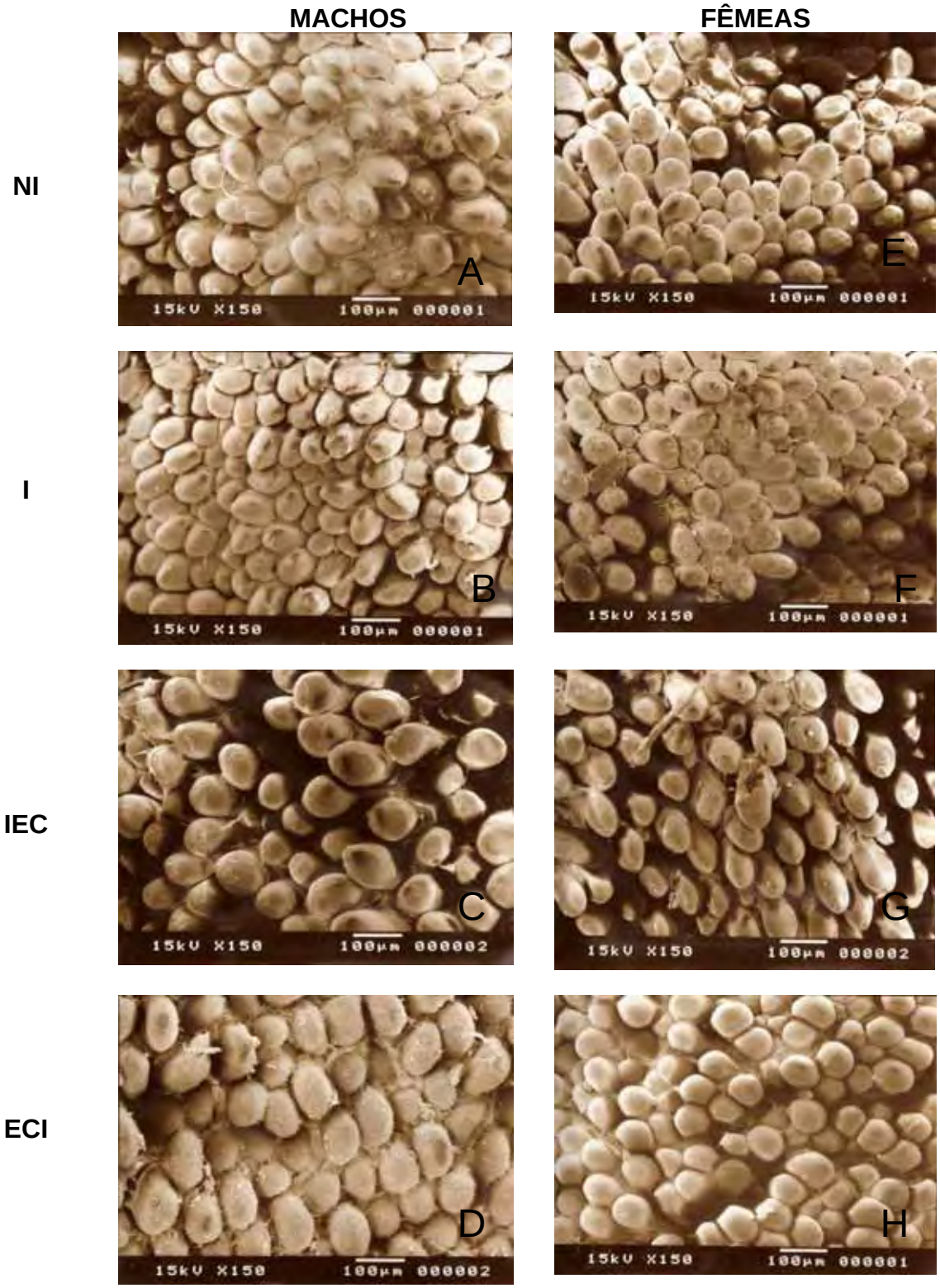


Figura 5: Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

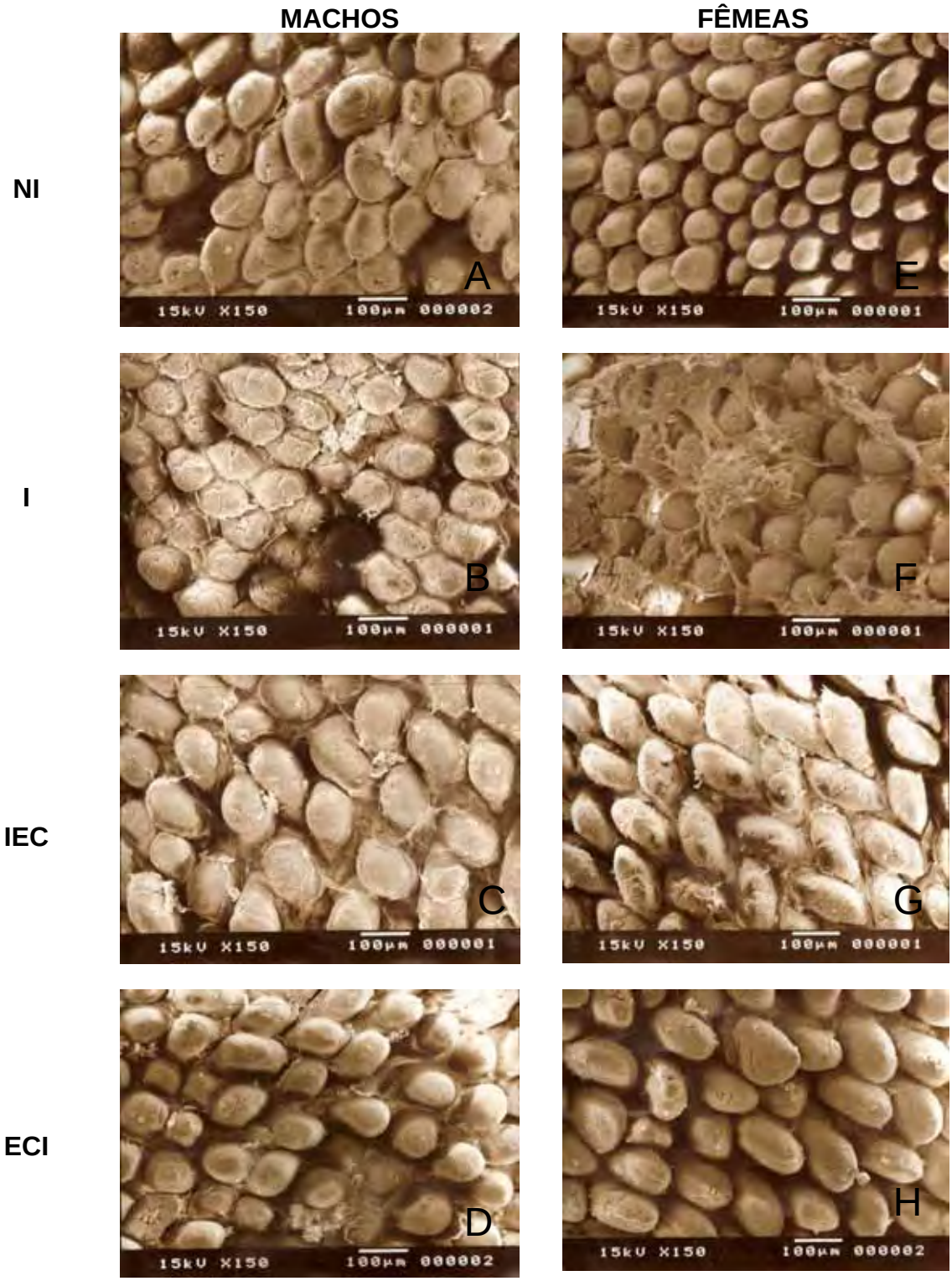


Figura 6. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

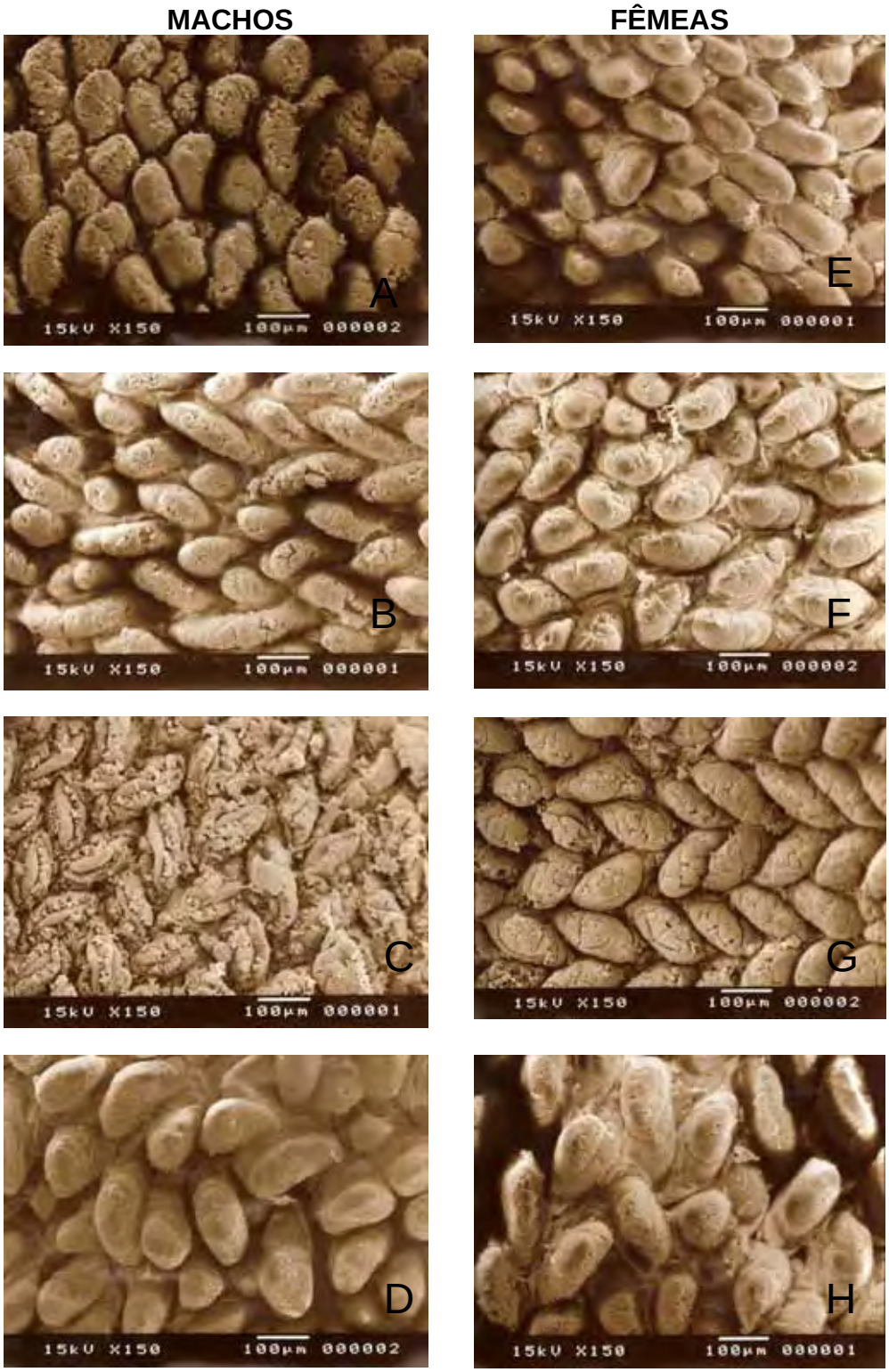


Figura 7. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE

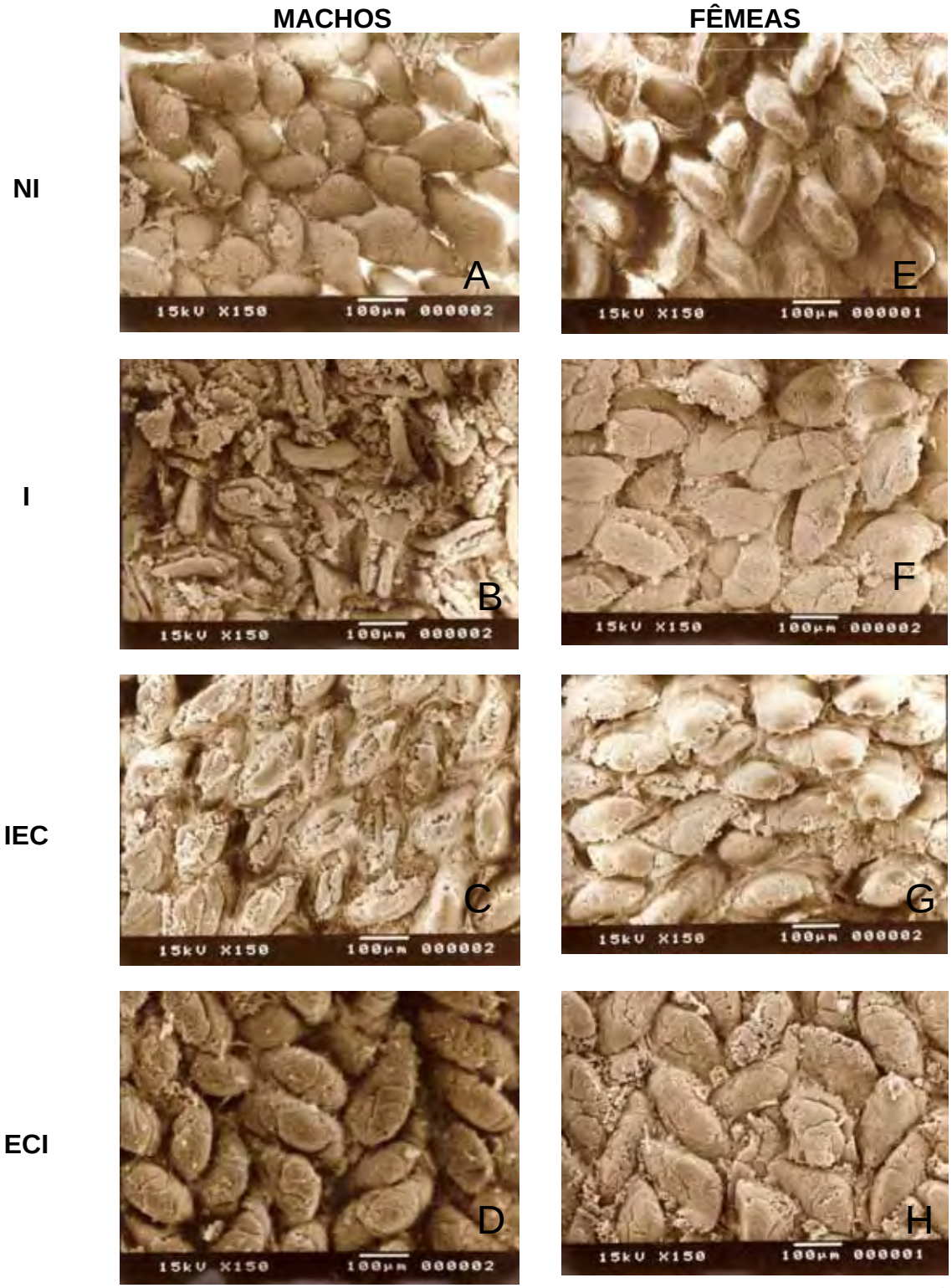


Figura 8. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do jejuno no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE

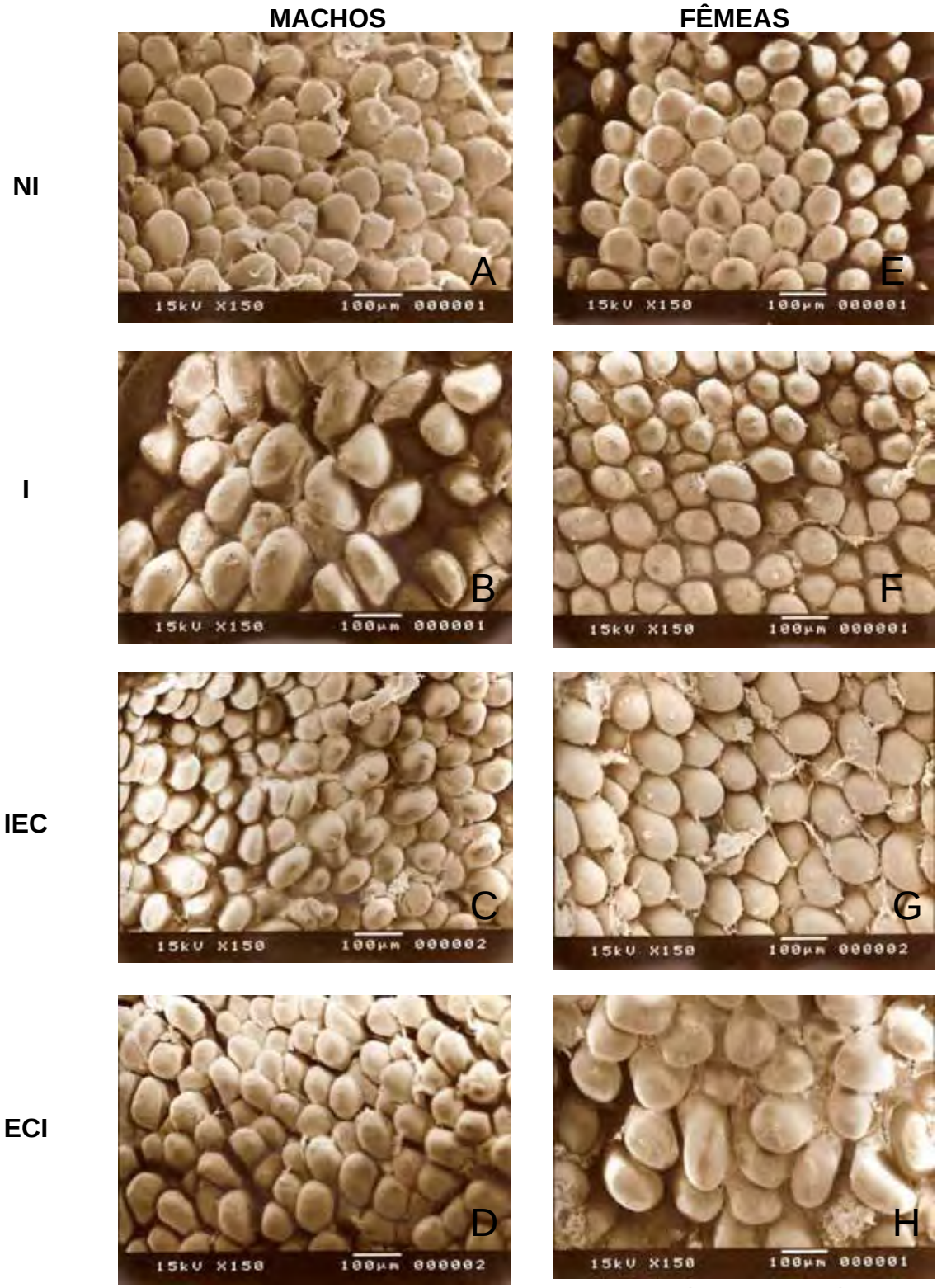


Figura 9. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 1º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE

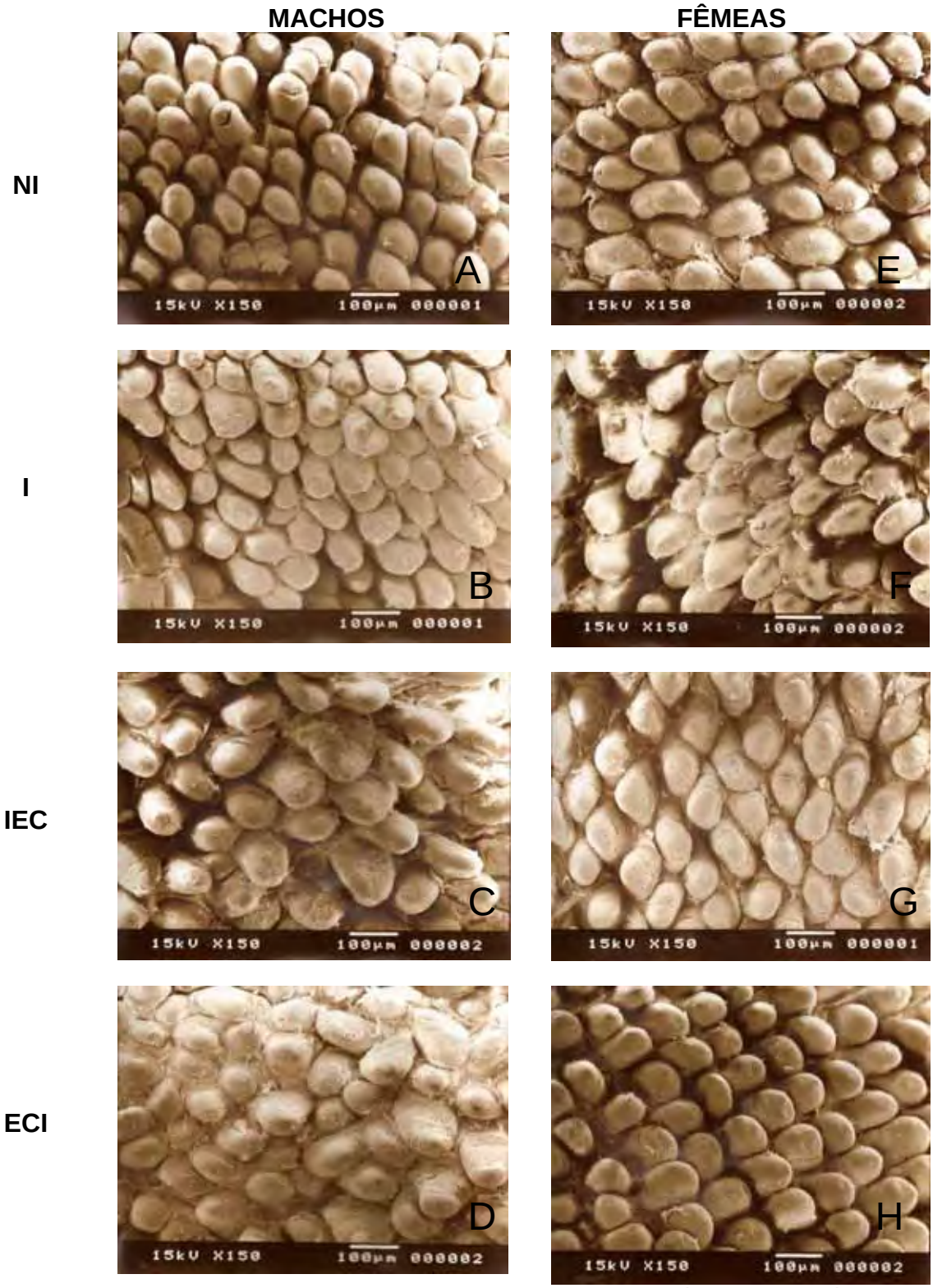


Figura 10. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 3º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

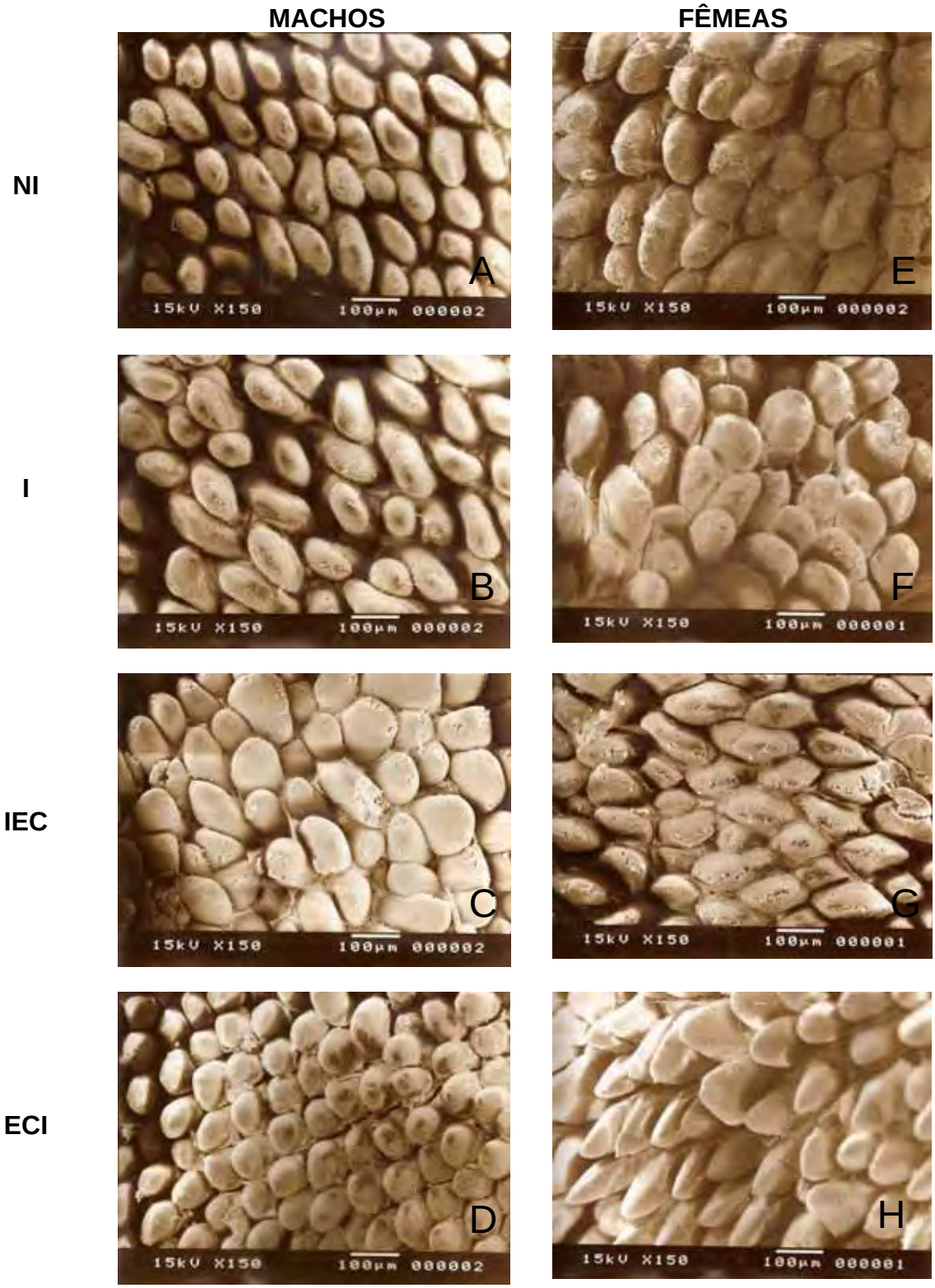


Figura 11. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 5º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

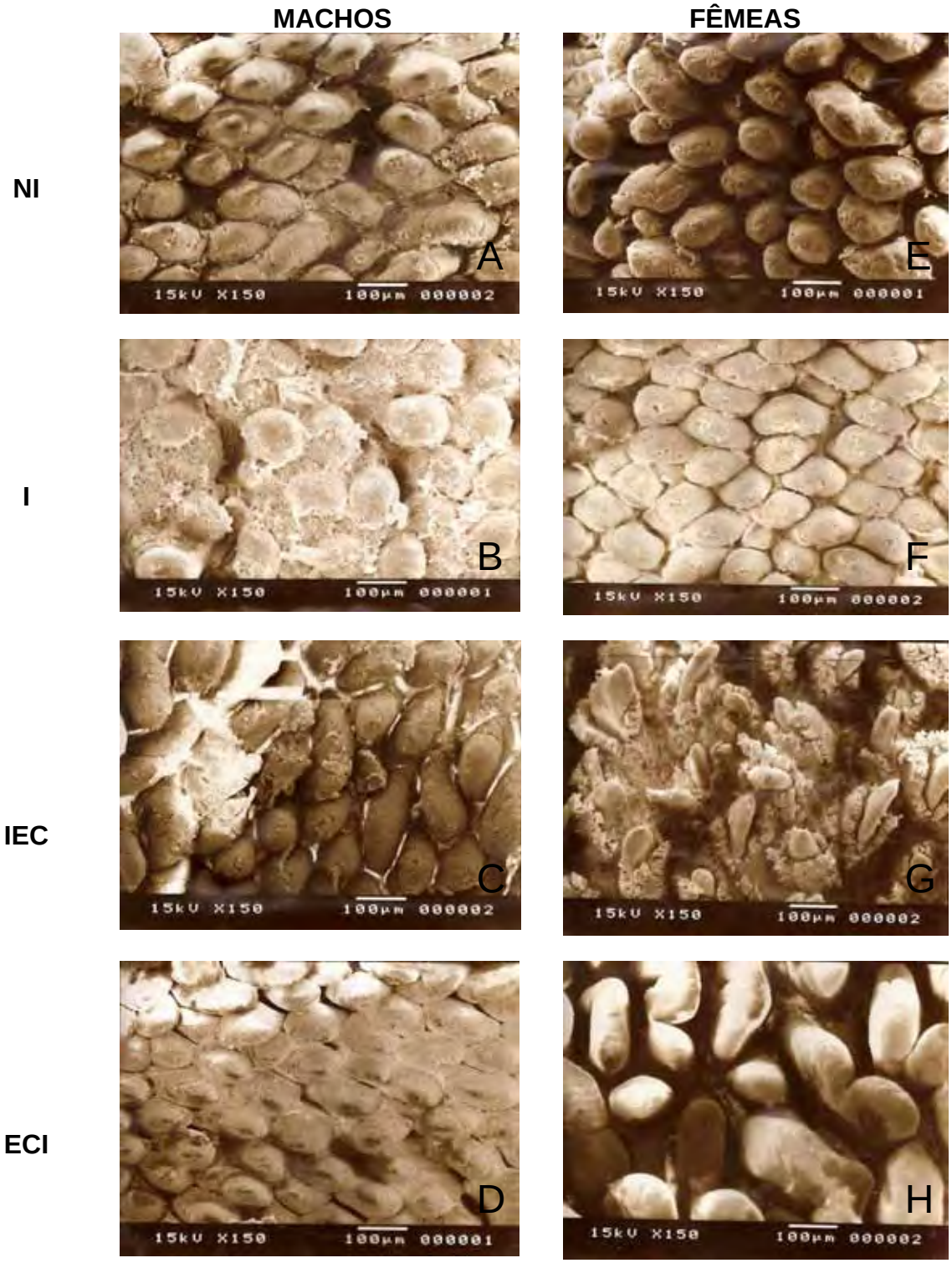


Figura 12. Eletromicrografia de varredura das vilosidades intestinais do íleo no 7º dia pós-infecção; A: Macho não infectado com SE, B: Macho infectado com SE, C: Macho infectado com SE e tratado com EC, D: Macho tratado com EC e infectado com SE, E: Fêmea não infectada com SE, F: Fêmea infectada com SE, G: Fêmea infectada com SE e tratada com EC, H: Fêmea tratada com EC e infectada com SE.

Altura de vilo e profundidade de cripta

Nas tabelas 3, 4 e 5 são apresentados os dados referentes à altura dos vilos e as profundidades das criptas para o duodeno, jejuno e íleo, respectivamente.

Para altura de vilos duodenais, os dados mostraram efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos no 5º e 7º dia pós-infecção e dos tratamentos no 7º dia, e não houve interação entre sexos e tratamentos em nenhuma das idades analisados.

No 5º dia pós-infecção, as fêmeas apresentaram altura de vilos significativamente ($p<0,05$) maior que os machos. O contrário foi registrado no 7º dia pós-infecção, sendo que os machos apresentaram vilos significativamente ($p<0,05$) mais altos. Esses dados reforçam a ocorrência de desenvolvimento sexo-específico da mucosa duodenal a partir do 5º até o 7º dia pós-infecção, também registrado pelos dados de densidade de vilos. Além disso, eles mostram que os machos apresentaram crescimento dos vilos em altura, enquanto que nas fêmeas o crescimento dos vilos foi em largura, o que explica o fato das fêmeas terem apresentado menor densidade de vilos, e que ao final da primeira semana de vida ele é maior nas fêmeas do que nos machos. Considerando que tamanho dos vilos (largura, altura) é determinado pela relação entre perda e proliferação celular (UNI et al., 1998), a menor altura de vilos observada para fêmeas no 7º dia pode ter sido decorrente da maior perda de epitélio (maior taxa de renovação celular) apresentada pelas mesmas em relação aos machos (Capítulo 3).

No que diz respeito aos tratamentos, no 7º dia pós-infecção, os pintos dos tratamentos NI e ECI (sem contagens significativas de SE, capítulo 2) apresentaram valores similares de altura de vilos duodenais e significativamente ($p<0,05$) maiores que os dos tratamentos I e IEC. Esses dados são interessantes, pois mostram que as menores alturas de vilos foram apresentadas pelos pintos com contagens significativas de SE (Tratamentos I e IEC) (Capítulo 2). Eles reforçam os dados de VISEK (1978), o qual mostrou que quando o trato digestório é submetido a injúrias, o organismo da ave responde rapidamente mediante de um processo de descamação e reação inflamatória do tecido conjuntivo, com

conseqüente diminuição dos vilos, em decorrência, provavelmente, de aumento da perda celular.

Em relação à profundidade das criptas duodenais (Tabela 3), os dados mostraram efeito significativo ($p<0,05$) do sexos e tratamentos apenas no 1º dia pós-infecção, e não foi observado interação entre sexos e tratamentos em nenhuma das idades analisadas.

No 1º dia pós-infecção constatou-se que os machos apresentaram maior profundidade de cripta em comparação com as fêmeas e que os pintos dos tratamentos NI e I apresentaram criptas com profundidades similares, porém significativamente menores ($p<0,05$) que os pintos dos tratamentos IEC e ECI. De acordo com PLUSKE et al. (1997), profundidades maiores de cripta indicam maior taxa de proliferação celular. Tanto machos quanto fêmeas apresentaram 100% de vilos normais no 1º dia pós-infecção (Capítulo 3). Assim sendo, nossos dados sugerem que as maiores profundidades de cripta duodenal apresentadas pelos pintos tratados com EC, antes ou após a infecção por SE, representam uma maior taxa de proliferação celular, estimuladas possivelmente por uma ação trófica da EC sobre o processo mitótico nas criptas duodenais. Todavia, como tais diferenças entre os tratamentos não foram mais registradas a partir do 3º dia pós-infecção, os dados traduzem uma ação focal dos inóculos bacterianos sobre a mucosa desse segmento intestinal..

Em relação ao jejuno, verificou-se efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos no 3º e 7º dias pós-infecção e dos tratamentos no 7º dia sobre a altura dos vilos (Tabela 4). Não foi observada interação entre sexos e tratamentos em nenhum dos dias pós-infecção analisados.

No 3º dia pós-infecção, as fêmeas apresentaram altura de vilos significativamente ($p<0,05$) maiores do que os machos, enquanto que, no 7º dia pós-infecção, os machos apresentaram valores maiores de altura de vilo. Esses dados são similares aos observados para o duodeno, mostrando que o efeito do sexo está presente e de forma similar em ambos os segmentos intestinais sobre a altura dos vilos, ao final da primeira semana de vida.

Ainda no 7º dia pós-infecção, constatou-se que os pintos do tratamento NI (controle) apresentaram significativamente ($p<0,05$) as maiores alturas de vilos jejunais em comparação aos demais tratamentos. Já os pintos dos tratamentos I e ECI apresentaram alturas de vilos semelhantes entre si e significativamente ($p<0,05$) maiores que o do tratamento IEC. Esses dados indicam um efeito negativo do agente infeccioso sobre a mucosa jejunal. Eles também sugerem que a EC atua de forma distinta no duodeno e jejuno, pois no duodeno apenas as aves infectadas (presença de SE) apresentaram redução nos valores de altura de vilo em relação ás aves controles. Tais diferenças entre as respostas da mucosa do jejuno e duodeno podem estar relacionadas com os dados obtidos por HARGIS et al., (1995) e ANDREATTI FILHO et al., (1997, 2000) segundo os quais o duodeno, juntamente com o ceco e o inglúvio é um dos locais de maior importância na patogenia das infecções paratifóides nas aves.

Em relação às profundidades das criptas jejunais, não houve influência significativa ($p>0,05$) dos sexos e/ou dos tratamentos sobre este parâmetro em nenhuma das idades analisadas, nem interação entre sexos e tratamentos. Esses dados mostram que, contrariamente ao observado para o duodeno, as profundidades das criptas do jejuno independem desses fatores. Considerando, mais uma vez, que a altura dos vilos intestinais está relacionada diretamente com a taxa de proliferação e perda celular (UNI et ., 1998, MAIORKA et al., 2002), nossos dados também indicam que as diferenças na altura dos vilos jejunais registradas entre os sexos e entre os tratamentos estão relacionadas com diferenças na taxa de extrusão celular e não de proliferação. Tal fato é comprovado pelas diferentes porcentagens de vilos normais e graus de perda de epitélio existentes entre os sexos e entre os tratamentos no jejuno (Capítulo 3).

Em relação ao íleo (Tabela 5), os dados mostram que houve efeito significativo ($p<0,05$) dos sexos no 1º dia pós-infecção sobre a altura de vilo e dos tratamentos no 1º e 5º dias.

No 1º dia pós-infecção, as fêmeas apresentaram alturas de vilos maiores do que os machos, e os pintos dos tratamentos NI (controle) apresentaram valores maiores do que os demais tratamentos, os quais não diferiram entre si para este

parâmetro. Todavia, no 5º dias pós-infecção, observou-se que os pintos dos tratamentos I e IEC apresentaram altura de vilos similares entre si e significativamente ($p<0,05$) maiores do que os pintos dos tratamentos NI e ECI, sendo que os pintos do tratamento NI apresentaram vilos ilíacos maiores que os dos tratamentos ECI. Além disso, houve influência significativa dos tratamentos sobre as profundidades das criptas no 3º dia pós-infecção, onde os pintos dos tratamentos I e IEC apresentaram valores significativamente ($p<0,05$) maiores que os dos demais tratamentos (tratamentos NI e ECI).

Esses dados referentes ao íleo mostraram que o agente infeccioso e a EC atuam de modo distinto sobre os três segmentos intestinais, sendo o efeito do primeiro maior sobre o duodeno. Segundo PLUSKE et al. (1997), os maiores valores de profundidade de cripta indicam maior proliferação celular. Sendo assim, os dados de profundidade de cripta sugerem que as maiores alturas de vilos ilíacos observados nos tratamentos I e IEC no 5º dia sejam resultantes de maior proliferação celular registrada no 3º dia pós-infecção.

Em suma, os dados do presente trabalho mostraram que o desenvolvimento da mucosa intestinal dos pintos de corte é influenciado pelo sexo e pelos tratamentos, que os efeitos de ambos podem diferir entre os segmentos intestinais, e que os sexos podem responder de forma distinta aos tratamentos.

Do ponto de vista prático, ele mostrou que a infecção por SE influencia negativamente o crescimento dos vilos dos três segmentos intestinais na primeira semana de vida dos pintos, mas não de forma contínua, e que tratamento com EC antes da infecção evita os efeitos da infecção sobre o desenvolvimento dos vilos duodenais e ilíacos.

Tabela 3. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidade de cripta (μm) do epitélio do duodeno de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	3º	5º	7º
Altura de vilo (μm)				
Sexo (S)				
M	678,00 a	793,00 a	895,00 b	1012,00 a
F	684,00 a	823,00 a	975,00 a	911,00 b
Tratamentos (T)				
NI	672,00 a	787,00 a	941,00 a	1057,00 a
I	647,00 a	799,00 a	855,00 a	891,00 b
IEC	708,00 a	806,00 a	958,00 a	952,00 b
ECI	696,00 a	839,00 a	987,00 a	1045,00 a
Probabilidade				
S	0,7900 ^{ns}	0,2790 ^{ns}	0,0490 *	0,0050 *
T	0,3020 ^{ns}	0,5840 ^{ns}	0,1240 ^{ns}	0,0000 *
S x T	0,9070 ^{ns}	0,0520 ^{ns}	0,1170 ^{ns}	0,0510 ^{ns}
C.V. (%)[1]	12,36	13,34	17,90	15,88
Profundidade de cripta (μm)				
Sexo (S)				
M	90,90 a	99,90 a	119,10 a	115,10 a
F	82,90 b	96,20 a	127,40 a	125,10 a
Tratamentos (T)				
NI	83,50 b	93,30 a	108,10 a	117,80 a
I	80,20 b	100,90 a	109,70 a	118,60 a
IEC	95,80 a	96,50 a	104,20 a	125,60 a
ECI	88,00 a	101,50 a	101,10 a	108,30 a
Probabilidade				
S	0,0250 *	0,4840 ^{ns}	0,2830 ^{ns}	0,1280 ^{ns}
T	0,0180 *	0,6580 ^{ns}	0,1290 ^{ns}	0,1390 ^{ns}
S x T	0,3930 ^{ns}	0,4260 ^{ns}	0,1000 ^{ns}	0,1310 ^{ns}
C.V. (%)[1]	12,42	7,39	6,90	11,24

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: machos, F: fêmeas; NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

Tabela 4. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidadede cripta (μm) do epitélio do jejuno de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Altura de vilo (μm)				
Sexo (S)				
M	351,00 a	409,00 b	527,00 a	610,00 a
F	376,00 a	432,70 a	530,00 a	545,00 b
Tratamentos (T)				
NI	372,00 a	405,00 a	548,00 a	770,00 a
I	379,00 a	409,00 a	531,00 a	522,00 b
IEC	336,00 a	406,00 a	550,00 a	483,00 c
ECI	365,00 a	404,00 a	484,00 a	536,00 b
Probabilidade				
S	0,1180 ^{ns}	0,0310 *	0,9020 ^{ns}	0,0100 *
T	0,2340 ^{ns}	0,2100 ^{ns}	0,1050 ^{ns}	0,0000 *
S x T	0,1320 ^{ns}	0,2240 ^{ns}	0,7200 ^{ns}	0,0530 ^{ns}
C.V. (%)[1]	17,29	13,43	13,68	14,87
Profundidade de cripta (μm)				
Sexo (S)				
M	77,10 a	98,20 a	102,10 a	106,00 a
F	80,20 a	102,40 a	108,40 a	91,10 a
Tratamentos (T)				
NI	80,10 a	98,70 a	101,10 a	109,30 a
I	82,10 a	103,30 a	108,10 a	90,60 a
IEC	81,70 a	98,70 a	107,20 a	92,50 a
ECI	70,60 a	100,40 a	104,60 a	101,60 a
Probabilidade				
S	0,3570 ^{ns}	0,4490 ^{ns}	0,2980 ^{ns}	0,0600 ^{ns}
T	0,0760 ^{ns}	0,9220 ^{ns}	0,8390 ^{ns}	0,2970 ^{ns}
S x T	0,3070 ^{ns}	0,6550 ^{ns}	0,3950 ^{ns}	0,6740 ^{ns}
C.V. (%)[1]	11,90	9,12	13,46	16,78

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: machos, F: fêmeas; NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

.

Tabela 5. Efeitos dos sexos e tratamentos sobre altura de vilo (μm) e profundidade de cripta (μm) do epitélio do íleo de pintos de corte, nos primeiros dias pós-infecção (1, 3, 5 e 7 dias). Jaboticabal, 2006.

	Dias pós-infecção			
	1º	**3º**	**5º**	**7º**
Altura de vilo (μm)				
Sexo (S)				
M	328,50 b	359,00 a	400,00 a	411,20 a
F	354,60 a	333,00 a	424,00 a	416,70 a
Tratamentos (T)				
NI	357,20 a	337,00 a	398,00 b	432,00 a
I	329,40 b	381,00 a	446,00 a	429,00 a
IEC	326,60 b	336,00 a	439,00 a	411,00 a
ECI	312,90 b	329,00 a	365,00 c	384,00 a
Probabilidade				
S	0,0090 *	0,0800 ^{ns}	0,2480 ^{ns}	0,6950 ^{ns}
T	0,0010 *	0,0640 ^{ns}	0,0250 *	0,0840 ^{ns}
S x T	0,2780 ^{ns}	0,2280 ^{ns}	0,0660 ^{ns}	0,3020 ^{ns}
C.V. (%)[1]	7,89	8,59	12,34	15,90
Profundidade de cripta (μm)				
Sexo (S)				
M	81,60 a	96,50 a	95,90 a	95,60 a
F	81,80 a	92,10 a	97,20 a	98,00
Tratamentos (T)				
NI	74,90 a	91,00 b	103,00 a	107,80 a
I	84,00 a	105,20 a	103,40 a	93,40 a
IEC	88,40 a	95,10 a	103,40 a	94,00 a
ECI	79,60 a	85,90 b	96,50 a	91,90 a
Probabilidade				
S	0,9460 ^{ns}	0,3190 ^{ns}	0,1600 ^{ns}	0,6250 ^{ns}
T	0,0940 ^{ns}	0,0250 *	0,6170 ^{ns}	0,1080 ^{ns}
S x T	0,0640 ^{ns}	0,4450 ^{ns}	0,4090 ^{ns}	0,3710 ^{ns}
C.V. (%)[1]	14,35	17,89	13,98	17,99

[1] = Coeficiente de variação; ^{ns} = não significativo; * = Significativo; a – b: Médias seguidas de letras distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p = 0,05); M: machos, F: fêmeas; NI: não infectado com SE, I: infectado com SE, IEC: infecção com SE e tratado com EC, ECI: tratado com EC e infectado com SE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREATTI FILHO, R. L.; SILVA, E.N.; CURI, P.R. Ácidos orgânicos e microbiota cecal anaeróbia no controle da infecção experimental de frangos por *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, p.661-672, 1997.

ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E.N.; RIBEIRO, A.R. Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis. **Brazilian Journal of Microbiology,** v.31, p.107-112, 2000.

APPLEGATE, T.J.; DIBNER, J.J., KITCHELL, M.L.; UNI, Z.; LILBURN, M.S. Effect of turkey (*Meleagrides gallopavo*) breeder her age and egg size on poult development . 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. **Comparative Biochemistry physiology**, v.124, p.381-389, 1999.

BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Brno Veterinary**., v.45, p.151-15, 1976.

BARROW, P.A.; TUCKER, J.F.; SIMPSON, J.M. Inhibition of colonization of the chicken alimentary tract with Salmonella Typhimurium gram-negative facultatively anaerobic bacteria. **Epidemiology and Infection**, v.98, p.311-322, 1987.

ELIA, C.; SOUZA, H. **Imunologia da mucosa intestinal**. 2002. Disponível em: <http://orbita.starmedia.com/~dia-a-diagastro/entrevistas_base.html>. Acesso em: 04 jun. 2002.

GOMIDE JR, M.H.; STERZO, E.V.; MACARI, M.; BOLELI, I.C. Use of Scanning Electron Microscopy for the Evaluation of Intestinal Epithelium Integrity. **Revista**

Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal Of Animal Science, v.33, n.6, p. 1500-1505, 2004.

HARGIS, B.M.; CALDWELL, D.J.; BREWER, R.L.. Evaluation of the chicken crop as a source of *Salmonella* contamination for broiler carcasses. **Poultry Science,** v.74, p.1548-1552, 1995.

MACARI, M. A fisiologia do sistema digestivo das aves (I). **Aves e Ovos**, n., p12-21,1999.

MAIORKA, A. Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2002.

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **NATURE**, London, v.241, p. 210-211, 1973.

OLIVEIRA, G.H.; BERCHIERI JR.A.; BARROW, P.A. Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adults birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.116-120, 2000.

OVERTON, J.; SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. **Journal of Cell Biology**, v.21, p.75-82, 1964.

PLUSKE, J.R.; WILLIANS, I. H.; AHERNE, F.X.. Maintence of villous height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. **Animal Science**, v.62, p.131-144, 1997.

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

VISEK, W.J. The mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**. v. 46, p. 1447-1469, 1978.