

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITO DA FUMIGAÇÃO DE NASCEDOUROS
COM FORMALDEÍDO SOBRE O TRATO
RESPIRATÓRIO E DESEMPENHO DE
FRANGOS DE CORTE**

Adriana Garcia de Freitas
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL
Setembro de 2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**EFEITO DA FUMIGAÇÃO DE NASCEDOUROS COM
FORMALDEÍDO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO E
DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE**

Adriana Garcia de Freitas

Orientador: Prof. Dr. Paulo Lourenço da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal).

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

Setembro de 2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F866e Freitas, Adriana Garcia de, 1968-
Efeito da fumigação de nascedouros com
formaldeído sobre o trato
respiratório e desempenho de frangos de corte / Adriana
Garcia de Frei-
tas. - 2007.

47 f. : il.

Orientador: Paulo Lourenço da Silva.

Co-orientador: Marcelo Emílio Beletti.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
grama de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.

1. Ovos - Incubação - Teses. I. Silva, Paulo
Lourenço da. II. Beletti,
Marcelo Emílio. III. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
IV. Título.

CDU: 636.082.474

Solo le pido a Dios
Que la guerra
No me sea indiferente
Es un monstruo grande
Y pisa fuerte
Toda la pobre inocencia de la
gente

Léon Gieco

Aos meus pais, Alaôr e Aparecida, que nos fizeram fortes o suficiente para lutarmos pelos nossos ideais, porém sem perder os valores, estes tão arraigados ao nosso modo de ser, estes que nos fazem “arrepiar” diante de injustiças, estes que nos fazem olhar o outro como a nós mesmos. São estes valores que me trouxeram até aqui, ou melhor, que estão me levando pelo meu caminho, que não me deixam parar, pois também não me deixam ver obstáculos que me impeçam de continuar. Não existem palavras para agradecer tanta doação; vocês se anularam e agora se realizam em nós, seus filhos! Obrigada pai, obrigada mãe!

A você, meu amantíssimo esposo, Públio, obrigada por estar sempre ao meu lado, obrigada por me dar a chance de amadurecer com você, de viver tantas coisas boas, destas que só de lembrar é sentir prazer duas vezes, é dar-me conta de como é bom amar você.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo o que me concede.

Aos meus irmãos, especialmente às minhas irmãs, Maria Angélica, Renísia e Elbe, que de tanto lutarem às vezes sentem vontade de “virarem Amélias”, ficar em casa vendo o tempo passar; lembram do e-mail? “... somos fiscalizadas e cobradas por nós mesmas a estar sempre em forma, sem estrias, depiladas, sorridentes, cheirosas, unhas feitas, sem falar no currículo impecável, recheado de mestrados, doutorados, e especialidades. Viramos "supermulheres". Só que temos graça, inconformismo, vontade e antes de mais nada temos perseverança, não desistiremos nunca; como disse Raul Seixas, a cabeça não agüentaria se parássemos. Amo vocês, independentemente de serem meus irmãos ou irmãs; por vocês me anulo, dou um órgão, uma córnea, o que for. Só posso ser feliz se vocês também o forem, tenham certeza disto.

Aos meus sogros, Sr. Eurípedes e Anamáris, obrigada pelo amor de filha que vocês sempre me deram.

Ao Prof. Dr. Paulo Lourenço, “mestre”, meu primeiro contato com a avicultura fora dos muros da faculdade, lembra, lá na Central de Campo da Rezende? Foi você quem me indicou para o meu primeiro e apaixonante estágio na Planalto, lembro até hoje. Mal sabia você que eu iria me apaixonar pela avicultura, aí já viu, você passou a fazer parte da minha vida. Agradeço muito a oportunidade do mestrado, que me possibilitou o estreitamento dos nossos laços de profissionalismo e amizade.

À Marcela e à Bia, meninas... Como vivemos intensamente estes dois últimos anos, sofremos, choramos e sorrimos, mas como crescemos. E, olha, a porta do crescimento é estreita mesmo, difícil de ser transposta, larga é a porta do conformismo, da derrota, do desânimo, escancarada, traiçoeira, louca para arrebanhar tudo e todos. Esta não nos pega, não, porque lutamos, somos

insistentes, chutamos para o gol e corremos para defender mesmo. Sucesso e muitas realizações para vocês, não vai dar outra. Obrigada, por serem parte da minha vida.

Aos meus amigos que carinhosamente chamo de “ex-escravos”: João Victor Rocha, Afonso da Costa Mendes Júnior e Marcela Santos Borges, com vocês divido todos os méritos deste trabalho.

Ao professor Egladson João Campos, por todas as suas “razões, fatos e divergências”; ajudou-me a crescer, ensinou-me com humor e amor. Que maravilha, dez anos bebendo direto na fonte do conhecimento, serei eternamente grata!

Ao Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti, pelo apoio incondicional, prezando sempre pela pesquisa de boa qualidade e responsabilidade.

Ao Prof. Baião, por ter-me despertado para o desenvolvimento deste tema e por ser sempre tão amigo.

A todos os profissionais que compartilharam comigo esta estrada. Saibam que cada um me ensinou um pouquinho, pois como diz a música do saudoso e magnífico Gonzaguinha, “todas as pessoas sempre são as marcas das lições diárias de outras tantas pessoas”, e Deus me deu a oportunidade única de conviver com gente maravilhosa e só peço a Ele que eu os tenha “aproveitado” bastante, são tantos: Marcel Fonseca Guilherme, Carlos Antônio Costa, Marcelo Resende, Márcia, Matheus, Luís Melo, José Luís, José Eduardo, Flávia, José Aurélio, Francisco da Vansil, Lacerda (batalhador), Emerson, Francisclay, Juvenal, Chicão, e a nova safra: Dijalme, Lourivaldo, Edílson, Neto, Aluízio, Camilo, Cação, Filipe, Humberto, Verônica, Alexandre, Felippi, Júnior, Valdiney, Rose, Sônia, Ivonete, Magno, Osmar, Andréa, Rubinho... Meu Deus! Não pára de aparecer gente boa no meu caminho, obrigada!

Àqueles que me permitiram começar esse estudo: José Eduardo Carneiro e Mauro de Freitas Pereira (Planalto), e terminar: Sandro Márcio Kerber (Sadia), alterando meu horário de trabalho nos períodos das aulas e da redação final, muito obrigada.

À Granja Planalto, à Dra. Sara Zardini de Sousa Franco, Dra. Ana Carolina Riccieri Santos Neves, Dra. Marcela Santos Borges e ao Dr. Pedro Crosara Gustin, pela colaboração, por permitirem a coleta de materiais e o acompanhamento do trabalho.

Agradecimento especial às meninas do PCP da Planalto: Gislene, Gislaine, Vanderlene, Eleni e Cidinha. Todos os dias me pergunto como conseguiram reunir tanta gente maravilhosa, cada uma tem seu valor e juntas são excepcionais.

Àqueles que me auxiliaram na realização deste trabalho: Jane e José Eduardo Melo, sem vocês eu não teria conseguido, obrigada.

Aos funcionários da FAMEV: Beth , Célia, Adélia, Helena e Marcos e do ICBIM Hélgio.

Às empresas Planalto, Ceva (Obrigada, Vanderson) e Polly-Sell (Obrigada, Marcel), por doarem parte dos recursos para esse trabalho.

À FAPEMIG e ao CNPq.

Às aves que foram objetos desse estudo, meu respeito.

SUMÁRIO

	Página
I. INTRODUÇÃO	01
II. REVISÃO DA LITERATURA	02
2.1 Sistema respiratório das aves	02
2.2 O ovo, seu manejo e contaminação	03
2.3 Formaldeído	07
2.4 Métodos de desinfecção do ovo incubável	07
2.4.1 Desinfecção a seco (fumigação)	08
2.4.2 Desinfecção úmida (pulverização e imersão)	10
2.5 Efeitos da desinfecção com formaldeído	11
2.6 O uso do formaldeído e a saúde humana	13
III. MATERIAL E MÉTODO	15
3.1 Local	17
3.2 Avaliações micro e ultra-estruturais	17
3.2.1 Avaliação ultra-estrutural	17
3.2.1.1 Protocolo de microscopia eletrônica de transmissão	17
3.2.1.2 Escores das avaliações ultra-estruturais e das lesões	18
3.2.1.3 Análises estatísticas	19
3.2.2 Avaliação microestrutural	19
3.2.2.1 Protocolo de microscopia de luz	19
3.2.2.2 Escores de avaliações, microestruturais, das lesões	20
3.2.2.3 Análises estatísticas	20
3.3 Avaliação de desempenho produtivo	20
3.3.1 Análises estatísticas	22
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Análise da ultra-estrutura da traquéia	23
4.2 Avaliações microestruturais da traquéia e pulmões	32
4.3 Avaliações de desempenho	39
V. CONCLUSÃO	43
VI. REFERÊNCIAS	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACGIH - Industrial Hygiene, Environmental, Occupation Health

CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária

CA - Conversão Alimentar

IDLH - Imediatamente Perigoso à Vida e à Saúde

IEP - Índice de Eficiência Produtiva

GPD - Ganho de Peso Diário

TWA - Média Ponderada pelo Tempo

NR-15 - Norma Regulamentadora nº 15

NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health

OSHA - Occupational Safety and Health administration

PPM - Parte por Milhão

STEL - Short Term Exposure Limit

EMA - Energia Metabolizável

PB - Proteína Bruta

Ca - Cálcio

Pd - Proteína digestível

Ld - Lisina digestível

Md - Metionina digestível

MCd - Metionina mais Cistina digestível

EFEITO DA FUMIGAÇÃO DE NASCEDOUROS COM FORMALDEÍDO SOBRE O TRATO RESPIRATÓRIO E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO – Foi conduzido um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da fumigação com formaldeído (37%) dos ovos no nascedouro, sobre as alterações histológicas micro e ultra-estruturais do trato respiratório de pintos de corte recém-eclodidos e no desempenho produtivo do frango de corte. Os tratamentos foram definidos de acordo com o tempo de exposição e concentração de formaldeído utilizado no nascedouro, sendo: T1 (troca da formaldeído a cada seis horas); T2 (troca da formaldeído a cada nove horas); T3 (troca da formaldeído a cada doze horas); e T4 (grupo controle, não foi utilizado formaldeído). Amostras de traquéia e pulmões dos pintos foram coletadas após a exposição ao formaldeído e examinadas ao microscópio de luz e ao microscópio eletrônico de transmissão, para avaliação de alterações estruturais. Foram observadas as seguintes lesões: acúmulo de muco; áreas de deciliações; aglutinações ciliares; áreas de descamações e infiltrações de heterófilos. Para avaliações do desempenho produtivo foram utilizados 600 pintos de cada tratamento (concentrações de formaldeído), os quais foram alojados em galpão experimental. O delineamento estatístico utilizado, de todas as análises, foi inteiramente casualizado. Para análises estatísticas dos resultados obtidos das avaliações ultra-estruturais, utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon. Para análises estatísticas dos resultados obtidos das avaliações microestruturais, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi utilizado o teste estatístico T-Student ($\alpha = 0,05$) para verificar diferenças entre as médias dos dados de desempenho das aves quando houve distribuição normal dos dados; quando a distribuição não foi normal, utilizou-se teste não-paramétrico de Wilcoxon para verificar diferença entre grupos. Para todas as variáveis foi considerado um nível de significância de $\alpha = 0,05$. A utilização do gás formaldeído durante todo o processo de eclosão causa alterações ultra e microestruturais na traquéia e pulmões de pintos de corte, sendo as mais freqüentes as áreas de deciliação, ruptura da membrana ciliar, aglutinação ciliar, áreas de descamação no epitélio e infiltrações de heterófilos, no entanto não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos. A exposição de pintos ao formaldeído na máquina de eclosão não influenciou o desempenho produtivo destas aves. Portanto, o gás formaldeído, nesta etapa, deve ter seu uso minimizado devido às alterações ultra e microestruturais na traquéia e pulmões de pintos recém-eclodidos, devendo a avicultura industrial desenvolver método de desinfecção menos danoso para as vias respiratórias superiores de pintos recém-eclodidos.

Palavras-chave: Alterações histológicas, desempenho, formaldeído, frangos, fumigação, pulmão, traquéia

EFFECT OF FUMIGATING HATCHERIES WITH FORMALDEHYDE ON RESPIRATORY TRACT AND PERFORMANCE OF BROILER CHICKENS

ABSTRACT – A study was conducted with the aim of assessing the effect of fumigating eggs in the hatching environment with 37% formaldehyde, on the micro- and ultrastructural histologic alterations in the respiratory tract of recently-hatched broiler chickens, and on the productive performance of broiler chickens. The treatments were defined in accordance with the time of exposure and concentration of the formaldehyde used in the hatching environment, as follows: T1 (formaldehyde changed every six hours); T2 (formaldehyde changed every nine hours); T3 (formaldehyde changed every twelve hours); and T4 (control group, no formaldehyde was used). Samples of the chicken trachea and lungs were collected after exposure to formaldehyde and examined under light microscope and transmission electronic microscope to evaluate structural alterations. The following lesions were observed: Mucous accumulation; areas of deciliation; ciliar agglutinations; areas of desquamation; heterophil infiltrations. To evaluate the productive performance 600 chickens from each treatment (formaldehyde concentrations) were used, which were housed in an experimental shed. The statistical design used for all the analyses was entirely casualized. For statistical analysis of the results obtained from the ultrastructural evaluations, the Wilcoxon non-parametric test was used. For statistical analysis of the results obtained from the microstructural evaluations, the Kruskal-Wallis non-parametric test was used. The Student's-*t* statistical test ($\alpha = 0,05$) was used to verify differences between the means of the performance data of the birds when there was normal distribution of the data; when the distribution was not normal, the Wilcoxon non-parametric test was used to verify differences between groups. For all the variables a level of significance of $\alpha = 0.05$ was considered. The use of formaldehyde gas during the entire hatching process caused ultra- and microstructural alterations in the trachea and lungs of broiler chickens, the most frequent being areas of deciliation, ciliar membrane rupture, ciliar agglutination, areas of desquamation in the epithelium and heterophil infiltrations, however, no statistical differences between the treatments were found. Exposure of the chickens to formaldehyde in the hatching machine did not influence the productive performance of these birds. Therefore, at this stage the use of formaldehyde gas must be minimized, due to the ultra- and microstructural alterations in the trachea and lungs of newly hatched chickens, and the poultry industry must develop a method of disinfection that is less damaging to the upper respiratory tracts of newly hatched chickens.

Key words: Histologic alterations, performance, formaldehyde, chickens, fumigation, lung, trachea

I. INTRODUÇÃO

A avicultura é o setor que apresenta maior velocidade de expansão entre os três principais setores produtivos que integram o complexo carne, no mundo (GODOY, 2001). A integração entre genética, nutrição, sanidade e ambiência mostraram ser, ao longo dos tempos, o caminho para a obtenção de uma produção altamente viável (FREITAS, COSTA, 2005).

Essa expansão do setor avícola vem acompanhada da assimilação contínua de modernas tecnologias (GODOY, 2001). A incubação é uma das tecnologias que permite um melhor aproveitamento comercial, porém apresenta um grande problema, que é a presença de microrganismos potencialmente patogênicos (FAUZIAH *et al.*, 1995). Esses microrganismos são encontrados em alguns ovos incubáveis e podem ser facilmente distribuídos no interior das máquinas de incubação e eclosão pelos movimentos do ar, durante o processo de incubação, podendo contaminar outros ovos (SANDER, WILSON, 1999).

Métodos para evitar a contaminação dos ovos vêm sendo utilizados, tendo em vista a máxima exploração produtiva das aves e também visando à saúde dos consumidores de produtos oriundos dos plantéis comerciais. Manejos como a manutenção da saúde dos plantéis, alimentação e nutrição adequadas, cuidados com a qualidade e integridade das cascas dos ovos, coletas adequadas, manejos corretos de incubação e desinfecção de ovos, dentre outros, são fundamentais para a redução da incidência de problemas de contaminações de ovos e conseqüentemente dos pintos, na avicultura comercial.

Dentre os desinfetantes utilizados com o objetivo de reduzir a pressão de contaminantes dentro das máquinas de incubação e eclosão, o formaldeído tem sido estabelecido como o desinfetante mais utilizado no processo de incubação e eclosão, devido à sua fácil administração e eficiência contra um largo espectro de microrganismos (STEINLAGE *et al.*, 2002).

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da fumigação de ovos com formaldeído (37%), usado no nascedouro, sobre as alterações histológicas micro e ultra-estruturais do trato respiratório de pintos de corte recém-eclodidos, bem como o desempenho produtivo do frango de corte em galpão experimental.

II. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Sistema respiratório das aves

A estrutura do sistema respiratório (SR) em aves é muito diferente da dos mamíferos, primariamente porque as aves possuem sacos aéreos – estruturas de paredes finas, pelas quais o ar inspirado vai até os pulmões (CASTRO, 2000)–, sendo que o trajeto do ar dentro das aves apresenta um movimento unidirecional, ocorrendo da seguinte forma, de acordo com Fedde (1998):

- Na inspiração: o ar canalizado pelo brônquio primário intrapulmonar e pelos brônquios secundários látero-ventrais e médio dorsais atinge os sacos aéreos caudais através dos brônquios terciários neopulmonares. O ar que se encontra nos brônquios médio-dorsais atinge os paleopulmonares e finalmente os médio-ventrais e sacos aéreos craniais.
- Na expiração: o ar retorna pelas mesmas vias aéreas e atinge a traquéia, mantendo a mesma direção do fluxo de ar nos brônquios secundários paleopulmonares.

As condições ambientais nas incubadoras industriais promovem o desenvolvimento embrionário, mas também podem aumentar a proliferação de microrganismos potencialmente patogênicos. Quando o pinto rompe a casca, ocorre a liberação de partículas de poeira (casca em pó), que pode disseminar partículas de salmonelas e outros patógenos dentro da máquina de eclosão (MICTCHEL, WALTMAN, 2003). O aumento da mortalidade, a redução da eficiência alimentar e a desuniformidade do lote são alguns exemplos do impacto que a contaminação bacteriana pode causar na produção avícola (WALKER, SANDER, 2004). Estes microrganismos podem estar associados como causa de onfalite e contaminações do trato respiratório (STEINLAGE *et al.*, 2002). Os microrganismos isolados do ambiente das incubadoras são freqüentemente os mesmos associados às onfalites (TESSARI *et al.*, 2002, WALKER, SANDER, 2004).

Ao final do vigésimo dia de incubação, o embrião começa a romper a casca em torno da câmara de ar; a respiração se torna pulmonar, extinguem-se as funções da membrana corioalantóide, indicando o nascimento próximo (TULLET, 1990,

CAMPOS, 2000). Neste momento, o pinto respira diretamente o gás formaldeído presente na máquina de eclosão e também partículas contaminantes como fungos e bactérias, que podem estar presentes no ambiente do nascedouro (TESSARI *et al.*, 2002).

2.2 O ovo e sua contaminação

O ovo incubável fornece todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião, e o manejo inadequado das reprodutoras e/ou dos ovos férteis afeta sua qualidade (ELGUERA, 1999). O objetivo principal do manejo do ovo fértil é assegurar a sobrevivência do blastoderma, evitando-se as contaminações e promovendo-se a paralisação do desenvolvimento embrionário durante o período de armazenamento (CAFÉ, GONZALES, 2003).

A contaminação microbiana pós-postura é comum, porém deve ser minimizada com processos de manuseio higiênico do ninho, ambiente (cama do aviário), coletador e por processos de desinfecção eficientes, a fim de controlar o ritmo de multiplicação microbiana na superfície do ovo, em especial nas três ou quatro horas após a postura, fase fisiológica da formação da câmara de ar (GUSTIN, 2003).

Os ovos possuem mecanismos preventivos de contaminação. As barreiras protetoras localizadas de fora para dentro antes do albúmen são: cutícula, casca mineral e membrana testácea (membrana interna da casca) (VALLE, 1996 *apud* SONCINI, BITTENCOURT, 2003).

A casca do ovo foi descrita como uma estrutura respiratória para o embrião em desenvolvimento, regulando a troca de gases vitais e vapor de água entre meio interno do ovo e o meio externo. A estrutura fisiológica básica da casca do ovo inclui vários componentes que são barreiras potenciais às trocas de gases vitais e vapor de água (PEEBS, McDANIEL, 2004). De acordo com Gonzáles e Café (2003), um ovo fertilizado contém um embrião em fase inicial de desenvolvimento, protegido pela casca, sendo esta, portanto, a principal linha de defesa do blastoderma contra os desafios do meio ambiente.

O ovo é um meio propício para o desenvolvimento de microrganismos e possui barreiras intrínsecas de defesa contra estes microorganismos e a sua multiplicação, como a cutícula que é formada por uma camada delgada de glicoproteína que reveste e a casca, obstruindo os poros. A penetração de bactérias é limitada pela casca, que se constitui em barreira física juntamente com suas membranas, as quais servem como filtros e retêm os microrganismos. O albúmen possui mecanismos químicos e físicos que impedem a multiplicação e o deslocamento bacteriano (BOARD, TRANTER, 1986, MORRIS, 1990 *apud* ANDRADE, 2005).

Segundo Soncini e Bittencourt (2003), a presença de microrganismos no interior dos ovos pode ocorrer de três formas:

- transmissão transovariana (transmissão vertical): a presença do agente no ovário da ave é veiculada com a formação do ovo. Exemplos: vírus da encefalomielite aviária; anemia das galinhas; pulorose, leucose aviária etc.;
- transmissão transuterina (transmissão vertical): por contaminação ou presença de agentes no epitélio do oviduto ou serosas dos sacos aéreos, incorporados durante a formação dos componentes do ovo. Exemplos: bactérias tipo *E. coli*, pasteurelas, micoplasmas, que contaminam os sacos aéreos);
- transmissão pós-postura (transmissão horizontal): esta é a forma mais comum de contaminação bacteriana e fúngica e acontece depois que o ovo entra em contato com o meio externo.

A preservação das barreiras naturais à contaminação dos ovos é objeto de estudo de especialistas em manejo de ovos e matrizes pesadas, tendo em vista uma melhor eficiência produtiva das aves e a preservação da qualidade microbiológica dos seus produtos, sendo importante o aprofundamento no conhecimento dos diversos produtos de desinfecção, objetivando a manutenção das características protetoras da casca (CAFÉ, GONZALES, 2003).

No entanto, esses mecanismos preventivos de contaminação dificultam, mas não impedem a penetração de microrganismos potencialmente patogênicos; os ambientes onde o ovo é produzido e o seu manejo após a postura têm grande influência sobre a sua qualidade (PATRÍCIO, 2003). A granja deve possuir condições de biossegurança, para evitar possíveis contaminações. O isolamento, a ventilação,

a distribuição dos equipamentos e a condição da cama são fatores importantes na produção de um ovo de boa qualidade (PATRÍCIO, 2003).

Além disto, inúmeras variáveis podem afetar a penetração bacteriana no ovo, dentre elas o tamanho do ovo, o número de poros da casca, a presença da umidade e os danos à cutícula (CAFÉ, GONZALES, 2003).

Com o propósito de manter um ambiente, de postura dos ovos, mais higiênico, devem-se tomar as seguintes medidas (VALLE, 1997):

- Usar pisos de grades;
- Estabelecer um programa de restrição de água, tanto em ambiente de criação quanto de produção;
- Usar bebedouros de niple;
- Manter a cama em boas condições;
- Evitar a entrada de água de chuva nos galpões;
- Assegurar que os aspersores funcionem corretamente e não molhem nem os pisos nem os ninhos;
- Prover uma dieta balanceada que previna a produção de fezes muito úmidas;
- Manter o lote saudável;
- Desinfetar a água de bebida;
- Em galpões ventilados mecanicamente, assegurar o fluxo correto de ar;
- Antes do alojamento de um lote, limpar e desinfetar o galpão corretamente, o que inclui o tratamento da água.

Como salienta Valle (1997), o primeiro contato dos ovos ao serem botados é com a cama ou tapete que forra o fundo do ninho. As seguintes medidas ajudam a reduzir a contaminação destes materiais e, portanto, dos ovos:

- Usar material do ninho de boa qualidade. A serragem de madeira suave funciona muito bem;
- Monitorar os níveis de contaminação desse material desde o ponto de origem e desinfetá-lo se for necessário;
- Monitorar mensalmente o nível de contaminação da cama dos ninhos nas granjas;
- Manter o material dos ninhos protegidos, para assegurar que permaneçam secos e limpos;
- Manter os ninhos limpos e cheios de cama até 2/3 de sua capacidade;

- Trocar a cama de ninhos mensalmente, se possível;
- Fechar os ninhos à noite e assegurar que serão abertos pela manhã antes do início da postura;
- Colocar barreiras na parte superior dos ninhos, para evitar que as aves subam sobre eles;
- Manter os ninhos em perfeitas condições.

Quanto ao manejo de coletas de ovos, ainda segundo Valle (1997), os funcionários devem ser bem treinados para fazê-lo cuidadosamente e observando as seguintes recomendações:

- Coletar os ovos, no mínimo, quatro vezes ao dia. Aumentar o número de coletas em condições de temperaturas extremas;
- Usar carrinhos suspensos para a realização das coletas;
- Lavar e desinfetar as mãos antes de recolher os ovos, principalmente se foram recolhidos antes os ovos postos no piso;
- Nunca incubar ovos de piso;
- Não recolher ovos em baldes ou cestos;
- Os ovos nunca devem ser lixados ou limpos com panos;
- Nunca recolher a mortalidade ao mesmo tempo em que se recolhem os ovos;
- Se há muita poeira no galpão, cobrir o carrinho aéreo, de transporte de ovos com plástico.
- Utilizar mão-de-obra suficiente para a realização das coletas.

Segundo Patrício (2003), nas condições de criação da avicultura brasileira, em que as aves são arraçoadas pela manhã e os galpões são abertos, a maior concentração de postura é na parte da manhã. Uma vez que as matrizes põem entre 60 a 70% da produção diária pela manhã, as coletas dos ovos devem se concentrar no período das 6 h às 12 h, com um mínimo de três a quatro coletas matutinas. Na parte da tarde, das 13 h às 17 h, deve-se coletar no mínimo mais três vezes.

Mesmo com todos estes cuidados, após a postura dos ovos os mesmos são desinfetados, podendo-se utilizar a fumigação com formaldeído ou outros métodos de desinfecção, como aspersão com uma solução desinfetante, que pode ser amônia, glutaraldeído, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros; imersão em solução desinfetante; uso de luz ultravioleta; imersão com gradiente de temperatura; imersão com gradiente de pressão (VALLE, 1997, PATRÍCIO, 2003).

No entanto, o procedimento de fumigação, assim como outros procedimentos de desinfecção, elimina grande parte da cutícula, deixando o ovo suscetível à contaminação (ELGUERA, 1999).

2.3 Formaldeído

O formaldeído é um grupamento químico pertencente à família dos aldeídos, também conhecido como aldeído fórmico, formalina, oximetileno, formol. O formaldeído é um gás normalmente utilizado em solução aquosa a cerca de 37% em massa, contendo metanol (1 a 3%) como preservativo contra a polimerização. Sem coloração, possui odor irritante e é miscível com a água (CETESB, 2007).

O formol comercial encontra-se disponível no mercado de diferentes formas de apresentação. Segundo Marques (1994), no caso específico da desinfecção deve-se utilizar: a 37% em peso o formol inibido (que contém de 6% a 9% de metanol), e a 37% em peso o formol estabilizado (que contém até 1% de metanol).

Tanto o produto inibido como o estabilizado iniciam a polimerização a temperaturas inferiores a 16°C. E quanto mais baixa é a temperatura, mais rápido será o processo de polimerização, tornando-se o formaldeído sólido, passando então a ser chamado de paraformaldeído.

O formaldeído é um aldeído gasoso altamente reativo, formado pela oxidação ou combustão incompleta de hidrocarbonetos. Em solução, apresenta um amplo espectro de utilidades na fabricação de resinas e tecidos, como desinfetante e como fixador ou preservativo laboratorial. A solução de formaldeído (formalina) é considerada perigosa e seu vapor é tóxico (BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE, 2006).

2.4 Métodos de desinfecção do ovo incubável

O formaldeído é um produto utilizado largamente na avicultura, para a desinfecção de ovos (PATRÍCIO, 2003), sendo basicamente duas as formas de

utilização, de acordo com Marques (1994): desinfecção a seco e desinfecção úmida, que serão descritas a seguir.

2.4.1 Desinfecção a seco (fumigação)

É o método mais conhecido e também, de acordo com o autor, um dos mais eficientes empregados na desinfecção de ovos incubáveis, dentro do objetivo de eliminar grande parte das bactérias que se acumulam na casca do ovo. Na fumigação dos ovos é necessário que a concentração do formol no ar seja rapidamente atingida. Essa vaporização pode ser realizada através de dois métodos: por calor (utilizando um anteparo aquecido ou por reação com permanganato) e por vaporização direta (por fumigação contínua ou método do pano com gaze).

Fumigação por calor: na utilização deste método, podem ser adotados dois procedimentos distintos:

- a) Misturando-se formol a 37% com permanganato de potássio. Nesta combinação, o calor é gerado pela própria reação química;
- b) Utilizando paraformaldeído em pó (91% de formaldeído) e uma resistência elétrica capaz de atingir a temperatura de 220°C. A resistência elétrica atua como gerador (aquecedor), transformando o formaldeído em pó em formaldeído gasoso.

Conforme apontam Marques (1994) e Patrício (2003), para uma boa fumigação deve-se observar os seguintes pré-requisitos:

- Temperatura: 25°C a 33°C;
- Umidade relativa: 75% a 95%;
- Tempo de exposição: de 15 a 20 minutos, segundo Patrício (2003); variável conforme a quantidade de formaldeído (MARQUES, 1994);
- Concentração ideal de formol no ambiente do fumigador (ver Tabela1);
- Ventilação adequada;
- Ambiente hermeticamente fechado.

A desinfecção seca com formaldeído, também chamada de fumigação, constitui-se em submeter o paraformaldeído (formaldeído a 91% na forma sólida,

polimerizado) a alta temperatura em recipiente apropriado, formado por resistência e anteparo de ferro, provocando sua despolimerização e sublimação. Outra forma de se conseguir a despolimerização é através da reação química entre formalina (formol 37%) e permanganato de potássio (FYDSA, 2007). Em temperatura ambiente o paraformaldeído despolimeriza-se vagorosamente e pode volatilizar-se completamente com o aumento de temperatura. Esta característica é utilizada para produzir gás de formaldeído para desinfetar ambientes industriais, como incubadoras, nascedouros, entre outros (FYDSA, 2007). O gás emitido nessas condições consiste principalmente de gás de formaldeído e vapor de água. O gás tem ação bactericida de contato, é muito eficaz contra salmonelas, coliformes e outras bactérias patogênicas, e tem pouca ação residual.

A fumigação de ovos é de fácil realização e possibilita a desinfecção de muitos ovos simultaneamente. As dosagens, segundo Marques (1994), estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Dosagem de formaldeído por metro cúbico da câmara de fumigação

Método	Produtos	Concentração	Fumigação Simples	Fumigação Dupla	Fumigação Tripla
Fumigação seca	Permanganato de Potássio/Formalina	Máxima	14g/7mL	28g/14mL	42g/mL
Fumigação seca (sublimação)	Paraformaldeído	Máxima	2,57g	5,14 g	7,71 g
Fumigação contínua	Formalina	Máxima	5,80 mL	11,6 mL	17,39 mL

Fonte: Adaptado de MARQUES (1994)

Na fumigação por vaporização direta, também podem ser utilizados dois procedimentos distintos:

- a) Fumigação contínua: consiste em colocar em uma vasilha aberta, dentro de um ambiente fechado, uma determinada quantidade de formol a 37%, por determinado período de tempo (procedimento de desinfecção adotado para nascedouros e que foi objeto do presente estudo);
- b) Método de pano de gaze: exige, para seu emprego, uma vigorosa movimentação do ar. Uma gaze, com dimensões suficientes para absorver a quantidade de formol necessária, sem pingar, é estendida (como se fosse um

lençol aberto) diante de ventiladores, oferecendo à corrente de ar uma superfície máxima de evaporação.

A fumigação contínua com formaldeído nas incubadoras e máquina de eclosão tem por objetivo reduzir o número de patógenos no ambiente das incubadoras e máquina de eclosão (SANDER *et al.*, 1995, MICTCHEL, WALTMAN, 2003). Assim sendo, a realização desta pesquisa vem contribuir para o melhor entendimento das conseqüências da fumigação para o pinto recém-nascido.

2.4.2 Desinfecção úmida (pulverização e imersão)

A desinfecção úmida também é um método bastante utilizado na desinfecção de ovos, podendo se dar de duas formas: por pulverização gota grossa e por imersão.

Na desinfecção por pulverização gota grossa, utiliza-se formalina associada com outro desinfetante (ver Tabela 2) ou mesmo pura, para pulverizar toda a superfície dos ovos. E a desinfecção por imersão, consiste na imersão dos ovos em solução desinfetante (PATRÍCIO, 2003). Nesse processo normalmente são utilizados outros tipos de desinfetante como: clorexidina, glutaraldeído, entre outros (MARQUES, 1994).

Tabela 2. Exemplo de associação de desinfetantes utilizada no método de pulverização, para cada 100 litros de água.

Produtos	Contaminação baixa	Contaminação normal	Contaminação alta
Amônia Quaternária a 80% mais Formalina	800 PPM/ 1% de formalina	1200 a 1600 PPM/ 1,5% de formalina	2000 PPM/ 1,5% a 2% de formalina

Fonte: Adaptado de MARQUES (1994)

O uso do formaldeído para desinfecção é eficiente contra organismos de superfície quando a temperatura e a umidade do ambiente são elevadas. O gás é muito tóxico para as aves e para os humanos e recomendações de segurança, como o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), devem ser rigorosamente observadas (FURUTA *et al.*, 1986).

2.5 Efeitos da desinfecção com formaldeído

Segundo Furuta *et al.* (1986), a fumigação com 40mL/m³ de formalina e 20g/m³ de permanganato de potássio em nascedouros com 20-30% dos ovos já eclodidos com ou sem ventilação pode causar degeneração e descamação do epitélio traqueal. Porém, estes autores afirmaram que ao utilizarem 20mL/m³ de formalina nos nascedouros não observaram nenhuma lesão nas aves fumigadas.

Devido ao fato do formaldeído ser altamente solúvel em água e o trato respiratório ser normalmente revestido por uma camada de secreção mucosa aquosa, o formaldeído dissolve-se nesta secreção, causando uma mudança do pH para ácido, reduzindo a mobilidade ciliar de células da traquéia de ratos (SANDER *et al.*, 1995).

Vários estudos têm demonstrado que o gás formaldeído causa irritação no trato de diversos animais: nas aves, Furuta *et al.* (1986) demonstraram os efeitos prejudiciais em pintos recém-nascidos; em roedores e em macaco *rhesus* (MONTICELLO *et al.*, 1991); no trato respiratório de mamíferos, inclusive no homem (FAUZIAH *et al.*, 1995).

Segundo Walker e Sander (2004), o formaldeído é um carcinógeno conhecido, e também causa danos ao sistema mucociliar do trato respiratório em embriões de pintinhos, se estes estão expostos a altas concentrações durante as últimas doze horas de desenvolvimento embrionário e também durante o período de incubação.

Sander *et al.* (1995) também relataram que ocorre uma aglutinação dos cílios da traquéia de pintos, quando estes são submetidos à fumigação com formaldeído, o que pode ser causado pelo efeito irritante do formaldeído nas células mucosas e/ou em consequência da redução da mobilidade dessas estruturas, conduzindo a uma aglutinação desses cílios.

Segundo Fauziah *et al.* (1995), a exposição dos pintos ao gás formaldeído na concentração de 10,9 ppm durante os três últimos dias de incubação, causa sérias alterações histológicas no trato respiratório das aves. A análise em microscopia eletrônica revelou aglutinação ciliar, cílios com vesículas, deciliação e esfoliação do epitélio. Além disso, evidenciou um aumento na secreção de muco, resultando na aglutinação dos cílios.

Zulkifli *et al.* (1999) analisaram, em microscopia eletrônica, traquéias de pintos expostos ao gás de formaldeído por 6, 30 e 54 horas e observaram alterações caracterizadas por excesso de muco, cílios aglutinados, poucos cílios e desprendimento de epitélio. As lesões foram mais severas nas aves expostas por 54 horas, quando comparadas com os tratamentos por 6 e 30 horas.

Sander e Wilson (1995) relataram que a exposição de embriões de galinha ao gás formaldeído, durante os três últimos dias de incubação, causou alterações funcionais e morfológicas na traquéia de pintos até os cinco dias de idade. As traquéias destes pintos apresentaram mobilidade ciliar reduzida e, ao serem analisadas em microscopia de luz, observaram-se poucos cílios, vesículas na superfície ciliar, muco em excesso e desprendimento do epitélio traqueal.

Em um experimento relatado por Di Matteo *et al.* (2000), pintos de um dia, vacinados contra o vírus atenuado da bronquite infecciosa (sorotipo Massachusetts) e não-vacinados, fumigados e não-fumigados com vapores de formaldeído a 40%, na máquina de eclosão, foram alojados em unidades de isolamento com condições ambientais controladas, com água e alimento à vontade e separados em quatro grupos: 1) Fumigados e vacinados; 2) Não-fumigados e vacinados; 3) Fumigados e não-vacinados e 4) Grupo controle. Após necropsia tomaram-se amostras das porções superiores de traquéia e pulmões no primeiro dia de idade, aos 8 e 26 dias de idade. Estas amostras foram processadas convencionalmente para serem analisadas ao microscópio ótico e eletrônico de transmissão e varredura. A fumigação contínua, na máquina de eclosão, com gás formaldeído a 37% e a vacinação via spray, contra o vírus da bronquite infecciosa (sorotipo Massachusetts) em pintos, causaram as seguintes alterações no trato respiratório destas aves: em pintos que receberam a fumigação e vacinação, o tecido traqueal apresentou perdas extensas no epitélio, áreas esfoliadas e glândulas ativas com grânulos eletrodensos; pintos vacinados e não-fumigados revelaram menos alterações na superfície epitelial e resposta mais rápida na regeneração epitelial quando comparados com as aves fumigadas e não-vacinadas.

Moustafa (2004) comparou a utilização de cinco desinfetantes em desinfecção de ovos: peróxido de hidrogênio; composto de amônia quaternária; ácido peracético; glutaraldeído e formaldeído. Foram utilizados 1225 ovos incubáveis divididos em sete grupos com 165 ovos em cada tratamento, onde foram avaliadas altas e baixas concentrações de quaternário de amônia em combinação com

peróxido de hidrogênio, utilizando dois métodos de aplicação: imersão e aspersão – a ação do uso de glutaraldeído em combinação com quaternário de amônia por imersão e fumigação com formaldeído. Dos resultados obtidos, concluiu-se que a redução completa da contagem total bacteriana da casca dos ovos foi obtida nos tratamentos com peróxido de hidrogênio e amônia quaternária, utilizados associados e em altas concentrações, e na fumigação com formaldeído 24 horas após a fumigação. A utilização de altas concentrações de amônia quaternária associada ao peróxido de hidrogênio resultou em uma maior mortalidade embrionária (7,8%), e a fumigação com formaldeído resultou em uma porcentagem maior de refugos (4,9%) durante a primeira semana de vida dos pintos.

No experimento relatado por Ide (1979), um ciclo de fumigação com 36mL/m³ de formaldeído por 18 horas reduziu em 99% a infecção viral de importantes agentes, como o vírus de gumboro, adenovírus, vírus da bronquite infecciosa, poxvírus, encefalomielite aviária e vírus da laringotraqueíte infecciosa nas incubadoras .

2.6 O uso do formaldeído e a saúde humana

Considerado substância cancerígena, o formaldeído tem seu uso regulamentado no Brasil pela Norma Regulamentadora nº 15/2000 do Ministério da Saúde, sendo os limites de tolerância dos seres humanos ao produto determinados por diversos órgãos ligados à saúde. Vejamos os limites de tolerância estabelecidos por algumas entidades e documentos oficiais:

- OSHA¹: TWA² = 0,75 ppm, STEL³ = 2 ppm, Nível de ação = 0,5 ppm
- ACGIH⁴: Valor Teto (Ceiling) = 0,3 ppm, A2 = Suspeito de Carcinogênico Humano
- NIOSH⁵: TWA = 0,016 ppm, Valor Teto = 0,1 ppm, Carcinogênico Potencial
- NR-15: TWA = 1,6 ppm
- IDLH⁶: 20 ppm

¹ OSHA - Occupational Safety and Health Administration

² TWA - Média Ponderada pelo Tempo

³ STEL - Short Term Exposure Limit

⁴ ACGIH - Industrial Hygiene, Environmental, Occupation Health

⁵ NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health

⁶ IDLH - Imediatamente Perigoso à Vida e à Saúde

A Norma Regulamentadora nº 15 (NR 15/1990), no parágrafo 15.1.5, define limite de tolerância como “a concentração ou intensidade máxima ou mínima, relacionada com a natureza e o tempo de exposição ao agente, que não causará danos à saúde durante sua vida laboral”.

De acordo com Elguera (1999), a Occupational Safety and Health Administration (OSHA) restringiu o uso do gás formaldeído nos Estados Unidos, como possível carcinogênico, sendo esta característica indesejável, por se tratar de um produto que será manipulado por diversas pessoas. No Brasil, o uso do produto é liberado mediante o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) e em ambientes vedados à difusão do gás, em conformidade com a NR 15/1990, item 15.4.1, alíneas “a” e “b”.

III. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Local E COLETA DO MATERIAL

O experimento foi realizado no Incubatório Europa da Granja Planalto, localizado no município de Uberlândia-MG, no período de junho a julho de 2005.

Foram utilizados 57600 ovos, com pesos entre 52 e 60 gramas, provenientes de matrizes, da linhagem “Avian 48”, com idade entre 30 e 44 semanas, livres de *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *Salmonella Enteritidis*, *S. Pullorum*, *S. Galinarum* e *S. Typhimurium*.

Os ovos foram incubados em incubadoras da marca CASP CM-150, de estágio múltiplo, com dimensão de 63,34 m³ e capacidade para 124416 ovos. No início da incubação, todos os tratamentos constaram de uma fumigação seca simples de 160 gramas de paraformaldeído (2,57 g de paraformaldeído /m³) no total, conforme descrição de Marques (1994). Este procedimento ocorreu uma vez a cada semana, em cada entrada de nova carga de ovos, e durante todo o período de incubação os ovos receberam fumigação contínua com troca da solução a cada 12 horas, da seguinte maneira: 100 mL de formalina (solução de formaldeído a 37,5%) diluída em 100 mL de água distribuídos em dois recipientes de 50 mL de formalina diluída em 50 mL de água, no interior da máquina, obtendo-se uma concentração de 0,58 mL de formaldeído/m³. O tempo total de incubação foi de 488 horas, sendo que 36 horas foram dentro da máquina de eclosão.

O experimento foi dividido em quatro tratamentos: T1, T2, T3 e T4. Em T1, T2 e T3, a primeira colocação da formalina (solução de formaldeído a 37%) foi realizada logo após a transferência da incubadora para o nascedouro, ao final do 18º dia de incubação, em seguida obedeceu-se à seguinte ordem:

- T1: Troca da formalina a cada seis horas, no total de seis trocas;
- T2: Troca da formalina a cada nove horas, no total de quatro trocas;
- T3: Troca da formalina a cada doze horas, no total de três trocas;
- T4: Grupo controle, não foi utilizado formalina.

O gás de formaldeído foi avaliado nas últimas 36 horas de incubação, o que ocorreu nos nascedouros da marca Petersime Modelo KK168, de dimensão de

15,07 m³ e capacidade máxima de 16800 ovos. O gás do formaldeído foi obtido por fumigação contínua, pela exposição de recipientes do tipo pratos de vinte centímetro de diâmetro, contendo formalina e colocados no interior dos nascedouros. Foram utilizados dois recipientes de cada vez, cada um contendo 90 mL de formalina, obtendo-se uma concentração de 4,48 mg de formaldeído/m³ em cada troca da solução.

Para cada tratamento foi determinado um nascedouro diferente, com a sua capacidade máxima. Todos os nascedouros estavam na mesma sala, chamada sala de eclosão.

A cada doze horas foram realizadas medições da temperatura e da umidade dentro das máquinas de eclosão, e os dados foram registrados em planilhas. Todas as máquinas foram reguladas com o mesmo grau de abertura da ventilação.

Trinta minutos após cada introdução de formalina dentro de cada nascedouro, realizou-se a medição da concentração do gás de formaldeído. Para isto, utilizou-se um medidor de gases da marca Gastec GV 100S, sendo que todas as medições foram realizadas com o aparelho situado a aproximadamente 1,20 m de altura em relação ao piso da máquina, na entrada do nascedouro, conforme esquematizado na Figura 1. A posição dos recipientes e os locais de retirada das amostras também estão esquematizadas nesta figura.

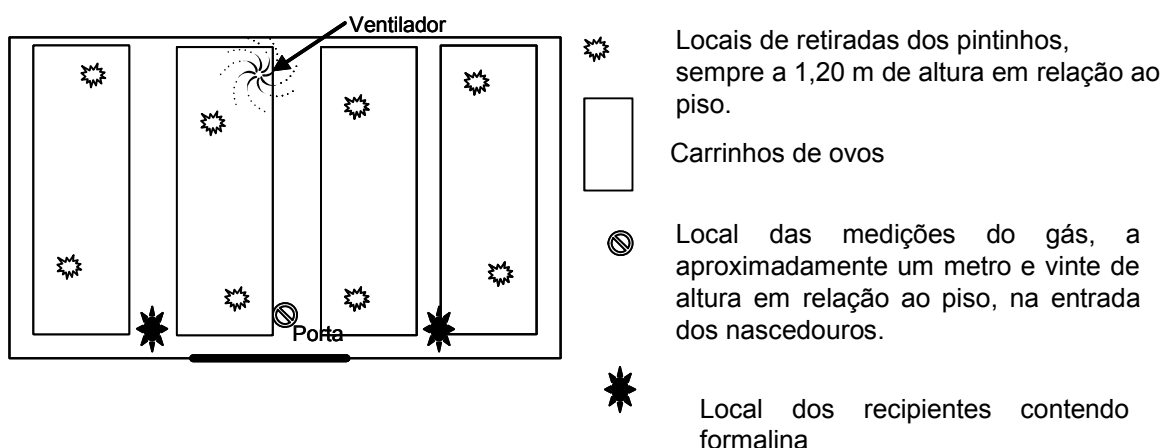


Figura 1. Local das medições do gás formaldeído

Ao final de 36 horas, foram retirados aleatoriamente de dentro da máquina de eclosão de cada tratamento (mantendo a altura aproximada de 1,20 m em relação

ao piso), oito ovos bicados com os pintos ainda vivos. Os pintos foram retirados de suas cascas e sacrificados por decapitação, de acordo com o disposto no artigo 15 da Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, e amostras de traquéia e pulmões foram coletadas e fixadas, metade com glutaraldeído na concentração de 3% em tampão fosfato a 0,1 M e pH 7,2, e metade em formalina (formaldeído em solução aquosa a 37%) a 10%, ainda no incubatório. Posteriormente, essas amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia e ao Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, para avaliações ultra-estruturais do epitélio traqueal e microestrutural do epitélio traqueal e dos pulmões. Ao final de 488 horas de incubação, 2.400 pintos foram separados, sexados, vacinados contra Marek e encaminhados ao galpão experimental do Centro de Pesquisa Planalto, para avaliação de desempenho.

3.2 Avaliações micro e ultra-estruturais

O material coletado no incubatório foi preparado para as avaliações ultra-estruturais ao microscópio eletrônico de transmissão e para as avaliações microestruturais utilizando microscopia de luz, no Laboratório de Histologia e no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia (ICBIM-UFU).

3.2.1 Avaliação ultra-estrutural

3.2.1.1 Protocolo de microscopia eletrônica de transmissão

As amostras de traquéia foram coletadas e fixadas com glutaraldeído na concentração de 3% tamponado em tampão fosfato a 0,1 M e pH 7, 2, ainda no incubatório. No Centro de Microscopia Eletrônica do ICBIM-UFU, as amostras foram

recortadas em cubos de aproximadamente 1mm³ e colocadas em água destilada para serem lavadas em três banhos de cinco minutos cada. Em seguida, foram colocadas em uma solução 1% de tetróxido de ósmio . Depois de uma hora, essa solução recebeu uma dose de ferrocianeto de potássio (1,25%) e o material ficou nesta solução por mais trinta minutos. Ao final dos trinta minutos, os fragmentos receberam um banho de água destilada por cinco minutos e foram desidratados em séries alcoólicas crescentes a 50%, 70%, 85%, 90%, 95%, 100%, 100% e 100%, ficando cinco minutos em cada concentração. Em seguida, passaram por dois banhos de quinze minutos com óxido propileno a 100%, para retirada do álcool impregnado nas amostras. Posteriormente, o material foi colocado em uma solução de 2:1 de resina Epon e óxido de propileno por doze horas. Após esse período, a solução contendo o material foi colocada na estufa a 37°C por quatro horas e, em seguida, a solução de resina e óxido de propileno foi substituída por uma solução de resina pura, na qual o material permaneceu por mais quatro horas. Finalmente, os cubos foram incluídos em resina Epon para serem cortados em ultramicrótomo para obtenção de cortes ultrafinos , conforme descrito por Bozzola e Russel (1998).

Os cortes ultrafinos foram corados com uranila por 45 minutos, em estufa a 37°C e, posteriormente, com chumbo por trinta minutos, em temperatura ambiente, também com base em Bozzola e Russel (1998) (BOZZOLA, RUSSELL, 1998).

A avaliação e a documentação fotográfica dos cortes ultrafinos foram realizadas em microscópio eletrônico (Zeiss Eletron Microscope EM 109), sendo avaliados os graus de lesões e a quantidade de muco no epitélio traqueal.

3.2.1.2 Escores das avaliações ultra-estruturais e das lesões

Na avaliação de muco, foram considerados três escores: (0) ausência ou pouco muco, (1) quantidade média de muco, (2) muito muco. As avaliações das lesões traqueais foram feitas seguindo o modelo de escores utilizado por Fauziah *et al.* (1995), apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos escores utilizados para avaliar o grau de lesões nos epitélios traqueais

Escore	Descrição
0	Nenhuma lesão
1	Áreas pequenas e isoladas de deciliação
2	Aglutinação ciliar e/ou grandes áreas de deciliação
3	Áreas de descamação local
4	Grandes áreas de descamação

Fonte: Adaptado de FAUZIAH *et al.* (1995)

3.2.1.3 Análises estatísticas

Por se tratar de avaliações subjetivas de escores, nas análises estatísticas optou-se pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon (CONOVER,1998). Para todas as variáveis foi considerado um nível de significância de $\alpha= 0,05$.

3.2.2 Avaliação microestrutural

3.2.2.1 Protocolo de microscopia de luz

Os fragmentos de traquéia e pulmão foram fixados em formol a 10% por 48h, lavados em água corrente, desidratados em série alcoólica crescente a 50%, 70%, 85%, 90%, 95%, 100%, 100% e 100%, mergulhados por trinta minutos em cada concentração, clarificados em Xilol (100%) e incluídos em parafina histológica. Cortes histológicos de 5 a 7 μm de espessura foram corados por hematoxilina-eosina e montados em bálsamo do Canadá.

3.2.2.2 Escores das avaliações microestruturais das lesões

Foram analisadas as seguintes variáveis nos cortes histológicos realizados na traquéia e pulmão:

- Lesões no pulmão;
- Lesões na traquéia;
- Alterações ciliares no epitélio da traquéia e pulmões;
- Presença de heterófilos.

As mudanças observadas foram classificadas em escores de 0-3, de acordo com as alterações.

3.2.2.3 Análises estatísticas

Nas análises estatísticas, por se tratar de avaliações subjetivas de escores, optou-se pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (SAMPAIO, 2002). Para todas as variáveis foi considerado um nível de significância de $\alpha = 0,05$.

3.3 Avaliação de desempenho produtivo

A avaliação de desempenho produtivo dos pintos oriundos dos quatro tratamentos foi realizada na Fazenda Experimental da Granja Planalto, integrante do Centro de Pesquisa Planalto, localizada no município de Uberlândia - MG. Foram utilizados 2400 pintos de corte de um dia de idade. As aves foram alojadas em galpão experimental convencional no mesmo dia do nascimento, divididas em 24 boxes idênticos, de 6 m², sendo 12 boxes de cada lado do galpão, forrados com cepilho de madeira. As aves foram aquecidas nos quinze primeiros dias de idade com campânulas a gás, colocadas nos corredores e aquecendo todo o galpão de forma homogênea e cortinas laterais externas e internas auxiliaram na manutenção da temperatura. Durante os primeiros sete dias de alojamento, utilizaram-se

bebedouro tipo copo de pressão, um para cada trinta aves, juntamente com bebedouro tipo pendular automático para cada boxe. Este último permaneceu até o período final de criação. Do início do alojamento até aos 14 dias de idade, utilizou-se dois comedouros pendulares, tipo infantil, para cada boxe e, posteriormente, um comedouro tipo tubular para cada trinta aves. O programa de luz utilizado foi de 23 horas nos primeiros sete dias de vida, 18 horas do 8º ao 18º dia de vida, e novamente de 23 horas do 19º até 42º dia. Ventiladores foram dispostos em duas linhas paralelas ao longo do seu comprimento.

Os tratamentos foram aqueles utilizados para a observação das lesões, sendo quatro tratamentos com seis repetições de 100 aves cada, sendo 50% de machos e 50% de fêmeas. Os tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado.

A densidade de alojamento foi de 16,66 aves/m². Na análise do desempenho das aves, foram avaliadas as variáveis: peso médio, ganho de peso, conversão alimentar, mortalidade e índice de eficiência produtiva (IEP).

Ração e a água foram fornecidas à vontade. O tratamento diário das aves iniciava-se no boxe número um e finalizava no boxe nº 24. Foram utilizados quatro tipos de ração: pré-inicial (do primeiro ao 7º dia de vida); inicial (do 8º ao 20º dia de vida); engorda (do 21º ao 38º dia de vida) e abate (do 39º aos 42º dia de vida), conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4. Níveis nutricionais das rações e períodos de utilização

<i>Nutriente*</i>	<i>Pré-inicial (1º ao 7º dia de vida)</i>	<i>Inicial (8º ao 20º dia de vida)</i>	<i>Engorda (21º ao 38º dia de vida)</i>	<i>Abate (39º ao 42º dia de vida)</i>
EMA	2950	3100	3200	3280
PB	22,5	21,5	19,7	18
Ca	1,00	0,90	0,90	0,90
Pd	0,48	0,48	0,45	0,36
Ld	1,22	1,23	1,07	0,91
Md	0,67	0,69	0,64	0,53
MCd	0,96	0,96	0,89	0,77

*EMA- Energia metabolizável; PB- Proteína bruta; Ca- Cálcio; Pd- Proteína digestível; Ld- Lisina digestível, Md- Metionina digestível e MCd- Metionina mais Cistina digestível.

As pesagens foram realizadas semanalmente, aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, em balança digital de 15kg e intervalos de 5g, para obtenção dos pesos médios de cada tratamento. As pesagens ocorreram sempre no mesmo dia da

semana e no mesmo horário. Além da vacinação contra Marek, realizada no incubatório, as aves foram imunizadas com vacinas vivas, no 7º e 14º dias de idade, contra Newcastle e Gumboro (cepa intermediária).

3.3.1 Análises estatísticas

Nas análises estatísticas foi realizado o teste de Kolmogorov- Smirnov para verificar se a distribuição dos dados era normal. Como houve distribuição normal utilizou-se o teste estatístico T-Student ($\alpha = 0,05$) para verificar diferenças entre as médias (PIMENTEL, 1985). Nas avaliações dos resultados produtivos, a distribuição dos dados foi normal.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise da ultra-estrutura da traquéia

Os valores médios de temperatura, umidade e das concentrações de gás de formaldeído, obtidos dentro da máquina de eclosão, podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios de temperatura, umidade e concentração de gás de formaldeído medidos na máquina de eclosão.

	Temperatura °C	Umidade %	Concentração do gás (PPM)
T1	36,23	88,57	3,70 ^a
T2	37,24	87,00	3,38 ^a
T3	37,20	87,95	2,66 ^a
T4	37,00	88,30	1,25 ^a

* Médias seguidas de letras iguais ou ausência de letras em uma mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$)

As concentrações obtidas do gás não apresentaram diferenças estatísticas, quando submetidas ao teste estatístico T-Student ($\alpha = 0,05$).

A análise em microscopia eletrônica da traquéia evidenciou alterações histológicas em todos os tratamentos, porém quando os resultados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Wilcoxon com $\alpha \leq 0,05$, não foram encontradas diferenças significativas; os resultados podem ser vistos na Tabela 6.

Tabela 6. Escores obtidos das lesões ciliares encontradas na análise ultra-estrutural das traquéias de pintos de acordo com os tratamentos.

Lesões ciliares			
T1	T2	T3	T4
4	2	4	2
1	2	2	1
1	2	0	0
1	2	2	2
3	2	4	1
2	1	1	2
2	2	2	0
0	4	2	...

*Dados seguidos de ausência de letras em uma mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$). Análise estatística Wilcoxon com $\alpha \leq 0,05$.

O tratamento T3 apresentou escores de lesões ciliares mais altos, enquanto T4 apresentou escores mais baixos, conforme pode ser observado nos dados da Tabela 6. Os achados são semelhantes aos encontrados por Zulkifli *et al.* (1999) e Fauziah *et al.* (1995), porém na análise estatística não houve diferença entre os tratamentos.

Tabela 7. Escores obtidos na quantidade de muco encontradas na análise ultra-estrutural das traquéias de pintos de acordo com os tratamentos.

Quantidade de muco			
T1	T2	T3	T4
2	2	1	2
1	2	1	2
1	2	2	2
1	2	0	2
1	2	1	0
1	1	1	1
1	2	1	1
2	2	1	...

*Dados seguidos ausência de letras em uma mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$). Análise estatística Wilcoxon com $\alpha \leq 0,05$.

Quanto à quantidade de muco, também não houve diferença estatística entre os tratamentos, como demonstrado na Tabela 7.

No tratamento 4, a maior parte das amostras apresentou-se sem ou com poucas alterações no epitélio traqueal (Figuras 2 e 3).



Figura 2. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Tratamento controle. Área sem lesão, presença de vários cílios em corte transversal (setas). Escore 0. Barra = 0,5 μ m.

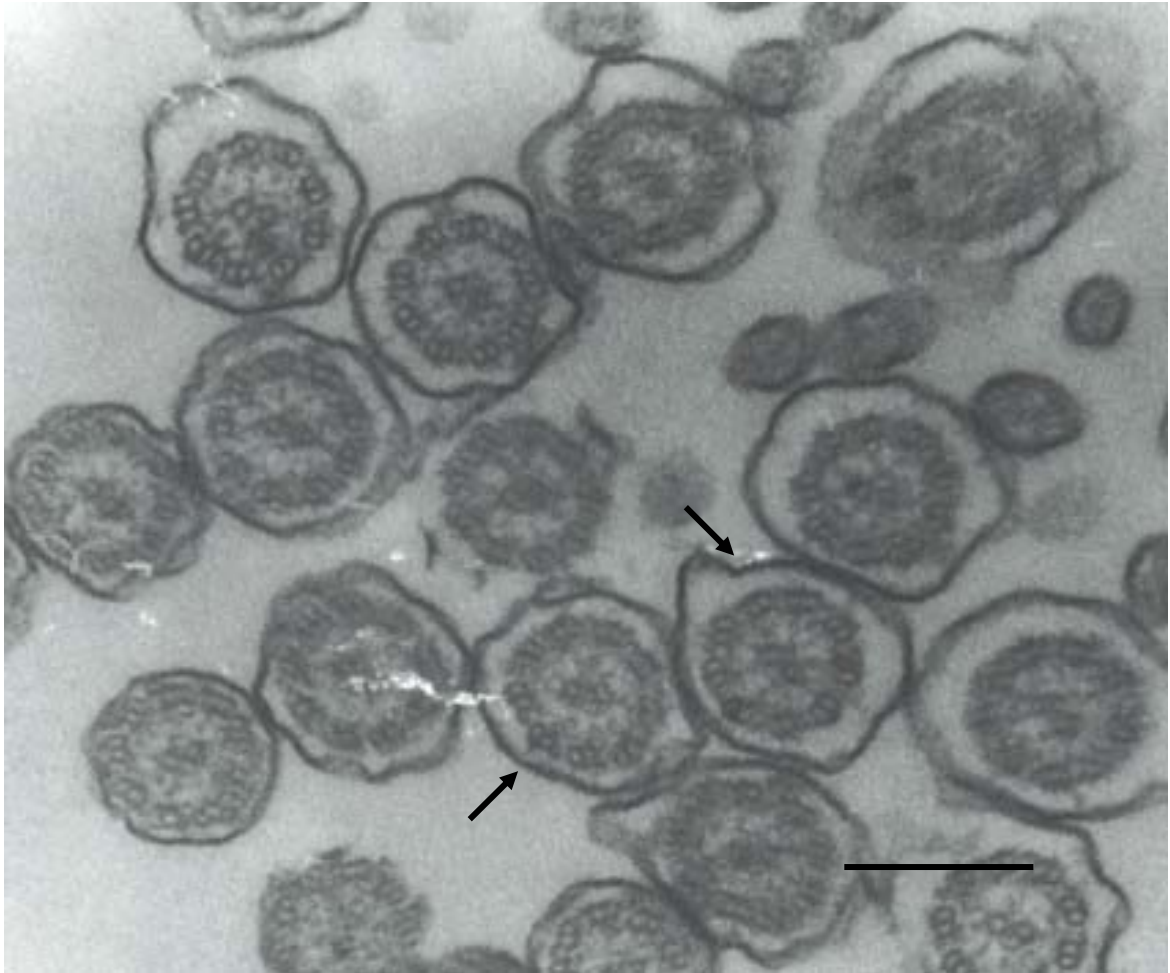


Figura 3. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Tratamento controle. Área sem lesão. Presença de vários cílios em corte transversal; notar a integridade das membranas (setas). Escore 0. Barra = 0,5 μ m

Nas Figuras 2 e 3, podem ser observadas áreas sem alterações, com presença de grande quantidade de cílios cortados transversalmente, sendo que na Figura 3, em um aumento maior, é possível identificar a integridade das membranas dos cílios.

As lesões histológicas encontradas com maior frequência foram áreas de ruptura de membranas ciliares e deciliações, encontradas principalmente em T1 e T2 e evidenciadas nas Figuras 4, 5 e 6.

Nas Figuras 4, 5 e 6 podem ser observadas diferentes áreas de ruptura de membranas ciliares.

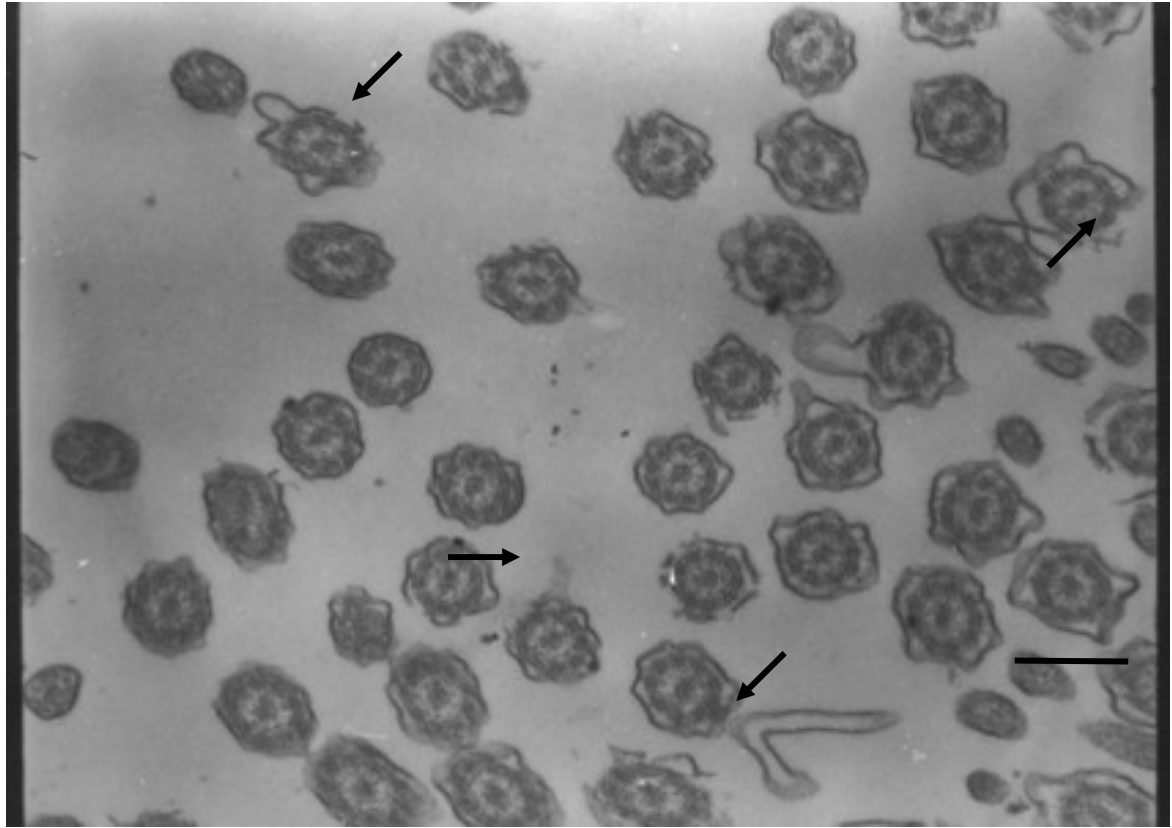


Figura 4. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de áreas de rupturas de membranas ciliares pequenas e isoladas (setas). Escore 1. Barra = 0,5 μ m.



Figura 5. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de rupturas de membranas ciliares (setas). Escore 1. Barra = 0,5 μ m.

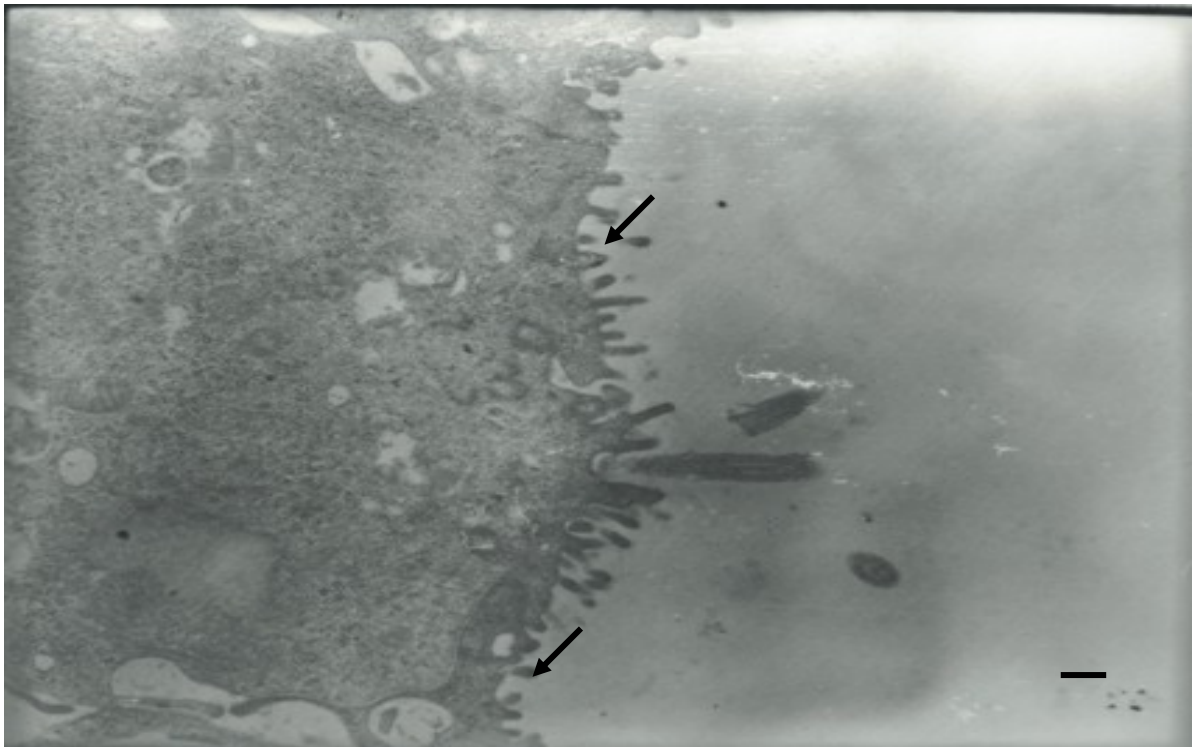


Figura 6. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de deciliações (setas). Escore 1. Barra = 0,5 μ m.



Figura 7. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de aglutinação ciliar (setas). Escore 2. Barra = 0,5 μ m.

Na Figura 7 podem ser observadas áreas de aglutinação ciliar, que se apresentam em forma de bolhas. Estas áreas de aglutinação podem ser devidas a um aumento de muco, assim como foi observado por Fauziah *et al.* (1995), Zulkifli *et al.* (1999) e também Sander *et al.* (1995).

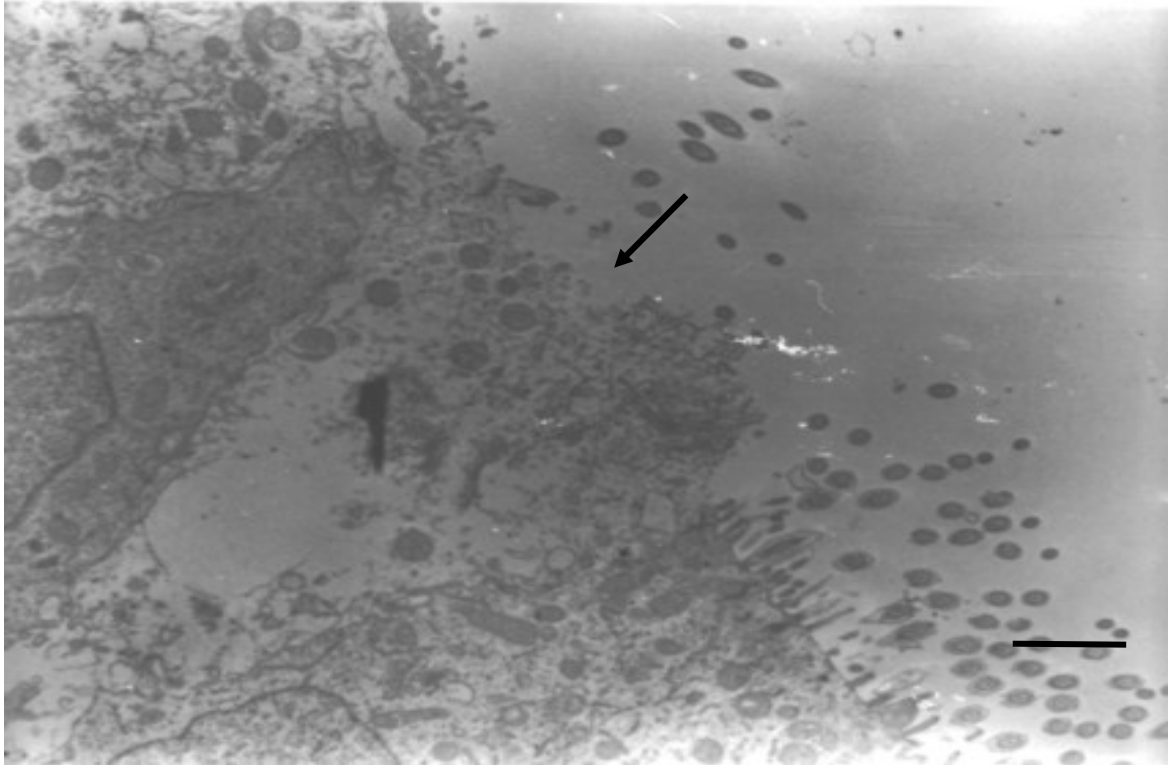


Figura 8. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de descamações do epitelial traqueal (seta). Escore 3. Barra = 0,5 μ m.

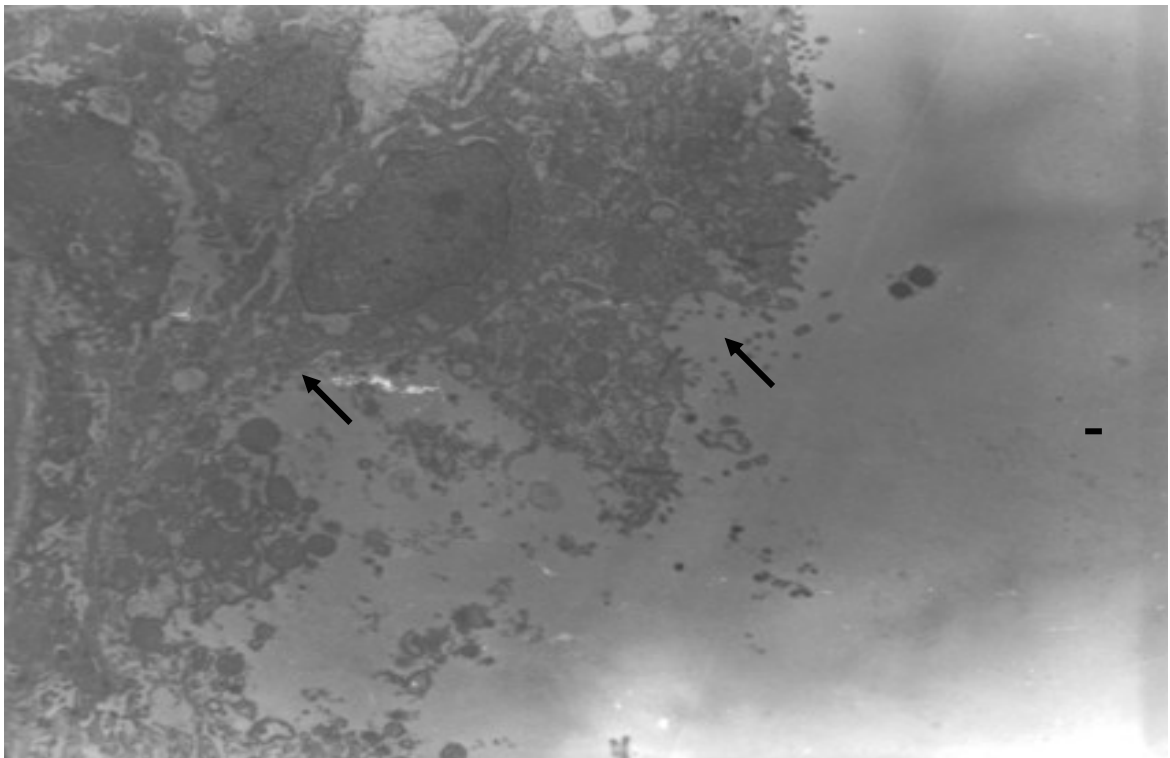


Figura 9. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Áreas de descamações do epitelial traqueal (setas). Escore 4. Barra = 0,5 μ m.

Nas Figuras 8 e 9, podem ser visualizadas grandes áreas de descamações do epitélio traqueal. Lesões semelhantes foram relatadas por Fauziah *et al.* (1995) e por Zulkifli *et al.* (1999). Esses autores e também Sander *et al.* (1995) observaram um aumento do muco, que poderia ser causado pelo efeito irritante do gás formaldeído, observação também constatada neste experimento. Nas Figuras 10 e 11, as setas demonstram a presença de muco nestas áreas.

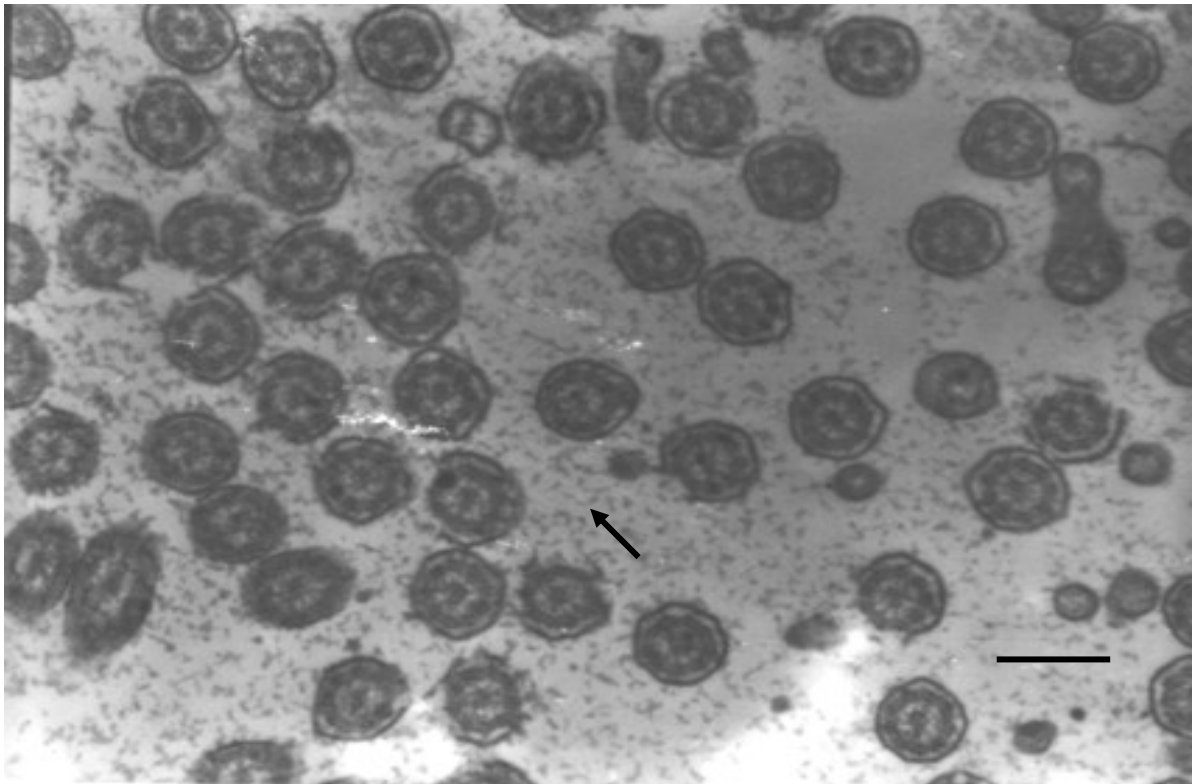


Figura 10. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Área com quantidade média de muco (seta). Escore 1. Barra = 0,5 μ m.

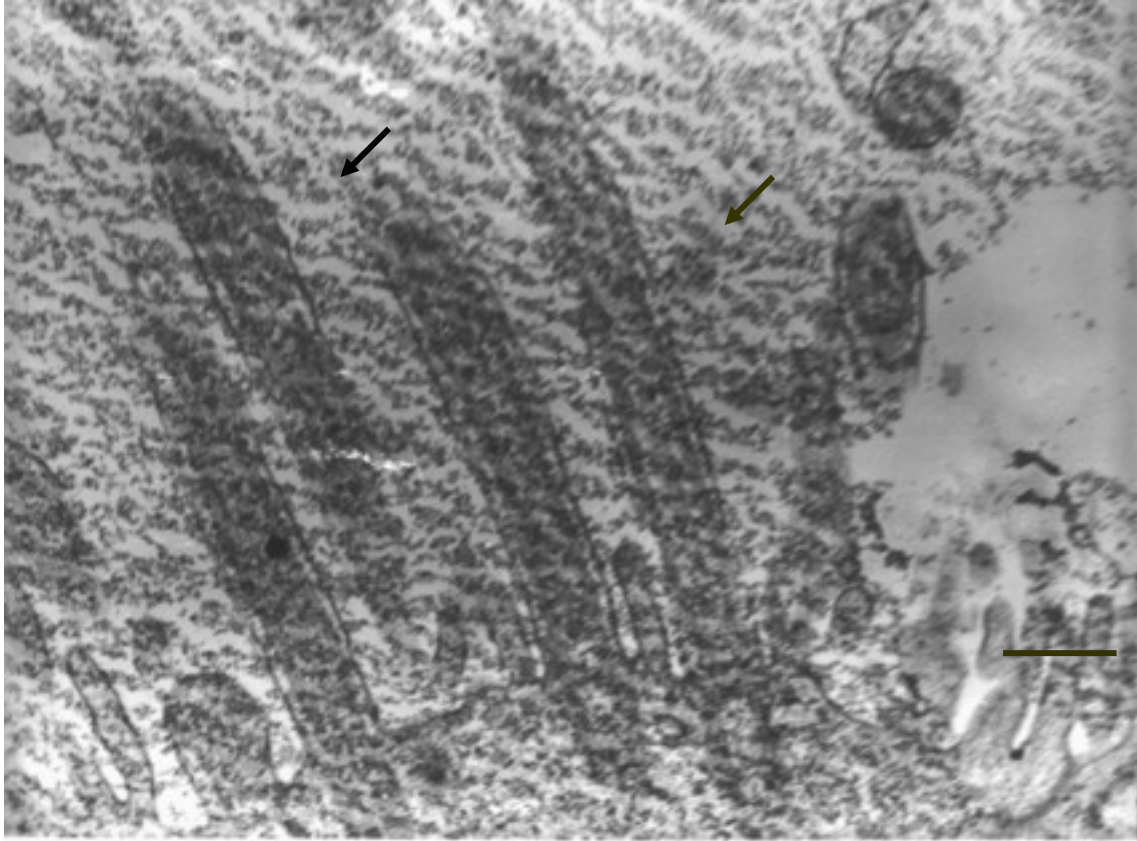


Figura 11. Eletromicrografia de traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Área com grande quantidade de muco (seta). Escore 2. Barra = 0,5 μ m.

4.2 Avaliações microestruturais da traquéia e pulmões

Tabela 8. Escores obtidos na avaliação utilizando microscopia de luz, quanto à presença de heterófilos nas amostras de traquéia e pulmões de pintos expostos à fumigação com formaldeído, de acordo com os tratamentos.

Tratamento	Presença de Heterófilos	
	Pulmões	Traquéia
T1	1,125	1,000
T2	1,125	1,000
T3	1,125	1,125
T4	0,625	0,625

*Dados seguidos de letras iguais ou ausência de letras em uma mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$). Análise estatística K-Wallis com $\alpha \leq 0,05$.

Tabela 9. Escores obtidos na avaliação utilizando microscopia de luz, quanto às alterações ciliares em amostras de traquéia e pulmões de pintos expostos à fumigação com formaldeído, de acordo com os tratamentos.

Tratamento	Lesões ciliares	
	Pulmões	Traquéia
T1	1,500 ^a	1,250 ^a
T2	1,125 ^{ab}	1,000 ^a
T3	1,000 ^{ab}	1,250 ^a
T4	0,750 ^b	0,875 ^a

* Dados seguidos de letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

Análise estatística K-Wallis com $\alpha \leq 0,05$.

Quando comparados os tratamentos (T1, T2, T3 e T4), não foram observadas diferenças significativas de lesões nos pulmões e nem quanto à presença de heterófilos nos pulmões e traquéia, conforme demonstrado na Tabela 8.

Quanto às alterações ciliares nos pulmões, ocorreram diferenças significativas entre o T1 e T4, não tendo sido observadas diferenças entre as alterações ciliares traquéia quando comparados os outros tratamentos, demonstrados na Tabela 9. Essas alterações ciliares observadas demonstraram um enfraquecimento da estrutura ciliar, resultando em um decréscimo de cílios. Achados similares foram observados por Sander *et al.* (1995).

As alterações ciliares entre T1 e T4 observadas no pulmão, podem ser devidas à maior intensidade de exposição do T1 ao formaldeído, que apresentou uma média de concentração do gás dentro da máquina de 3,7 ppm, quando comparado com o T4, em que a média foi de 1,25 ppm. O que confirma os resultados obtidos por Fauziah *et al.* (1995), que encontrou escores maiores de lesões em pintos expostos ao gás formaldeído por 54 horas, a uma concentração de 10,9 ppm, quando comparados àqueles expostos por 6 e 30 horas, ou seja, a uma concentração mais baixa. Ao contrário de Zulkifli *et al.* (1999) que demonstrou que, em geral, as alterações causadas em decorrência de exposições ao gás formaldeído, a uma concentração de 10.9 ppm, foram similares às causadas por altos níveis de exposição, com concentrações de 23,5 ppm. De acordo com Sander *et al.* (1995), as alterações ciliares podem ser causadas pelo efeito irritante do formaldeído nas células produtoras de muco.



Figura 12. Fotomicrografia de corte histológico cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Grupo controle. Notar a presença de cílios íntegros (seta).Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra= 50 μ m.

Na Figura 12, a seta indica a presença de cílios íntegros no epitélio pulmonar de pintos que não foram expostos diretamente ao formaldeído, grupo controle.

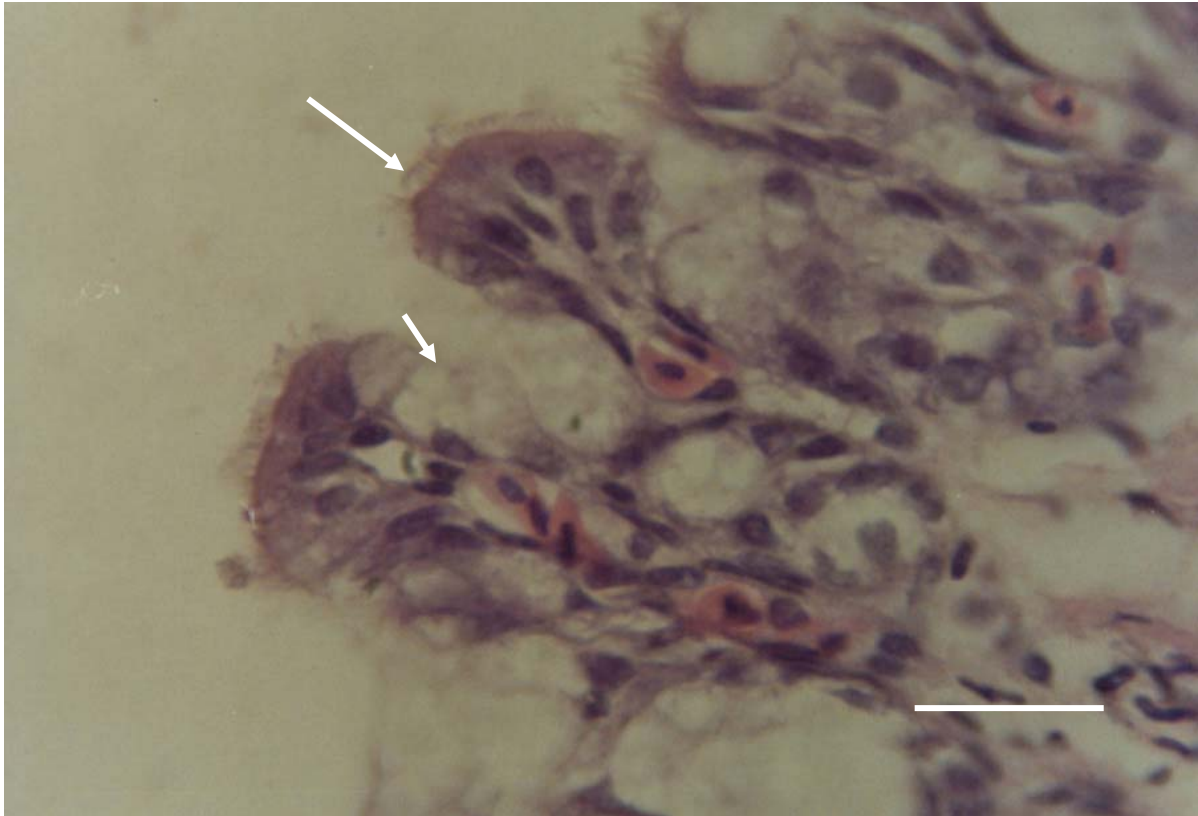


Figura 13. Fotomicrografia de corte histológico cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. Grupo controle. Notar a presença de cílios íntegros (seta maior) e também áreas de deciliações (seta menor).Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra=50 μ m.

As alterações ciliares observadas no T1, demonstrado na Figura 17, podem estar relacionadas com a utilização do formaldeído na incubação, ou seja, os ovos são expostos ao gás de formaldeído antes mesmo de serem transferidos para a máquina de eclosão e também à utilização de formaldeído em outras máquinas de eclosão, na mesma sala do tratamento controle (Figura 13).

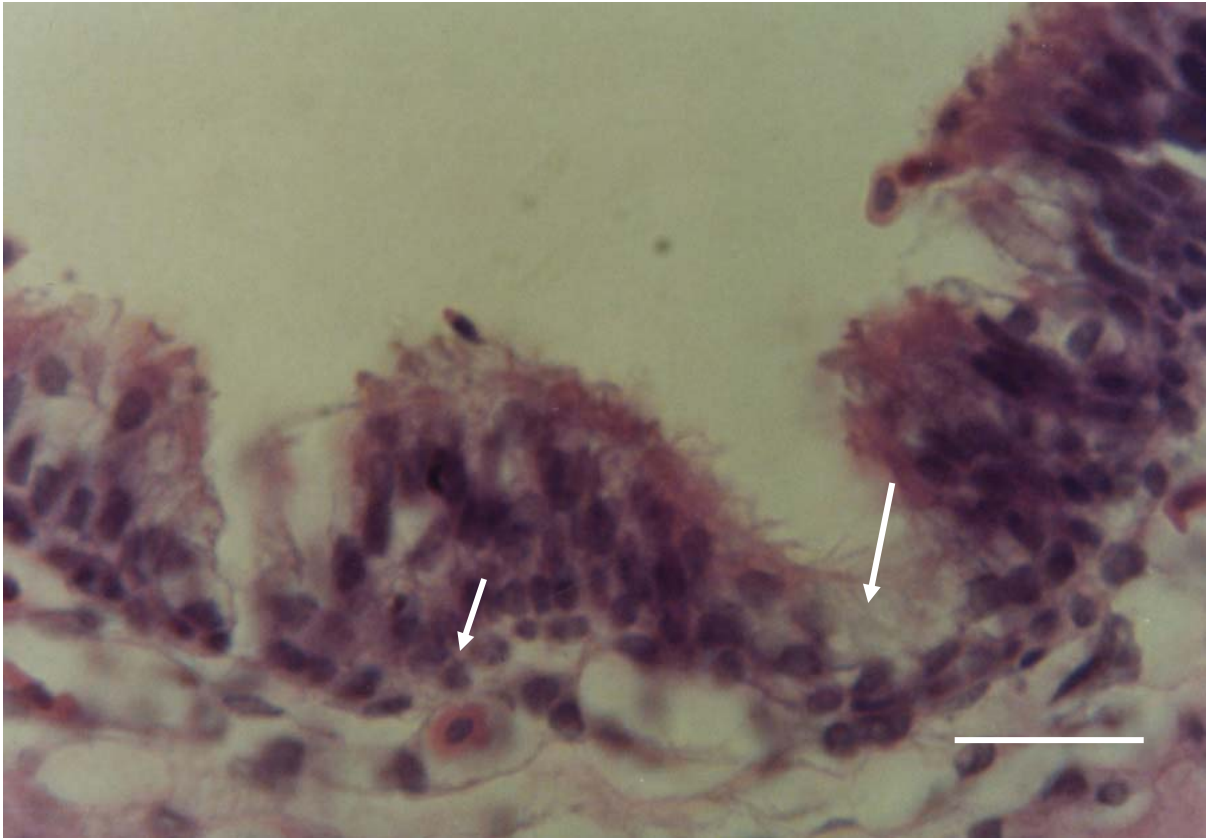


Figura 14. Fotomicrografia de corte histológico de cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. T1 (Troca a cada seis horas). Notar a presença de heterófilos (seta menor) e áreas de deciliações (seta maior).Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra=50 μ m.

Na Figura 14 estão presentes áreas de deciliações e heterófilos obtidos de cortes histológicos de traquéias de pintos do T1, cuja troca da solução de formalina ocorreu a cada seis horas.

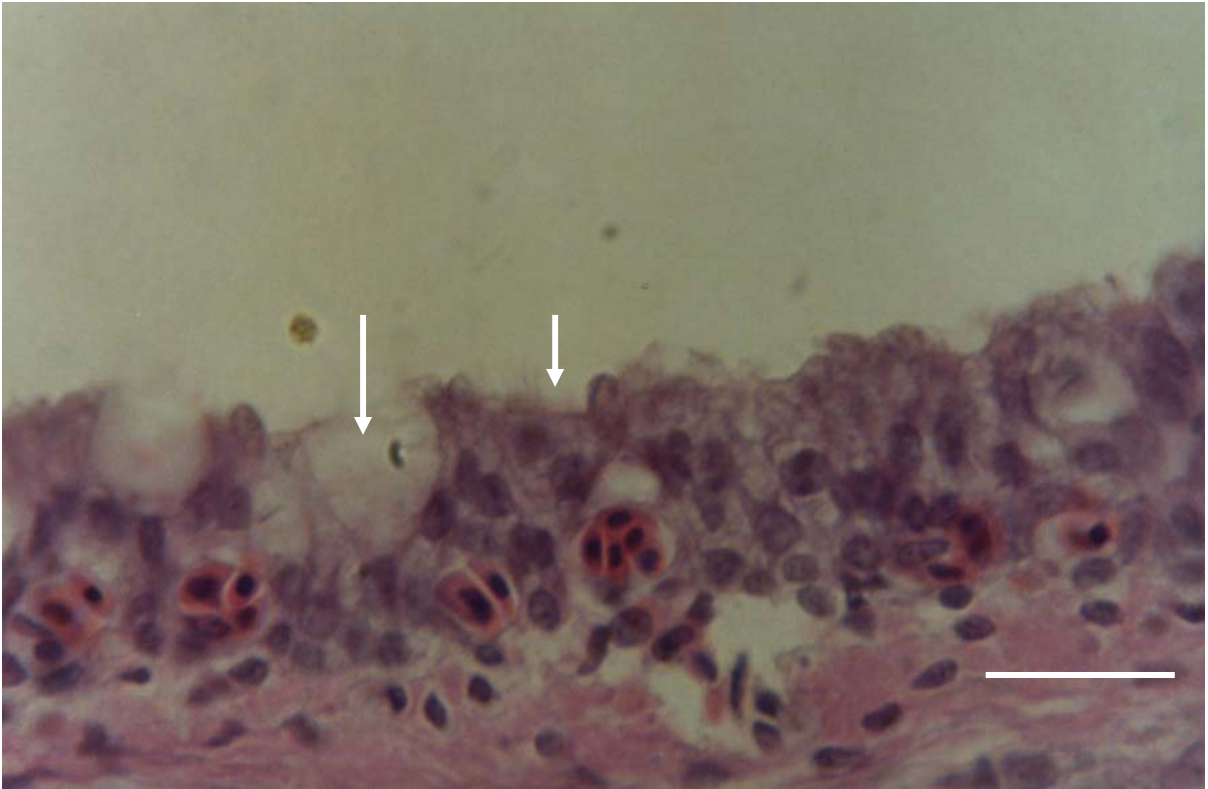


Figura 15. Fotomicrografia de corte histológico de cílios do epitélio da traquéia de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. T1 (Troca a cada seis horas). Notar a presença de áreas de deciliações (seta menor) e células caliciformes (seta maior). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra=50 μ m.

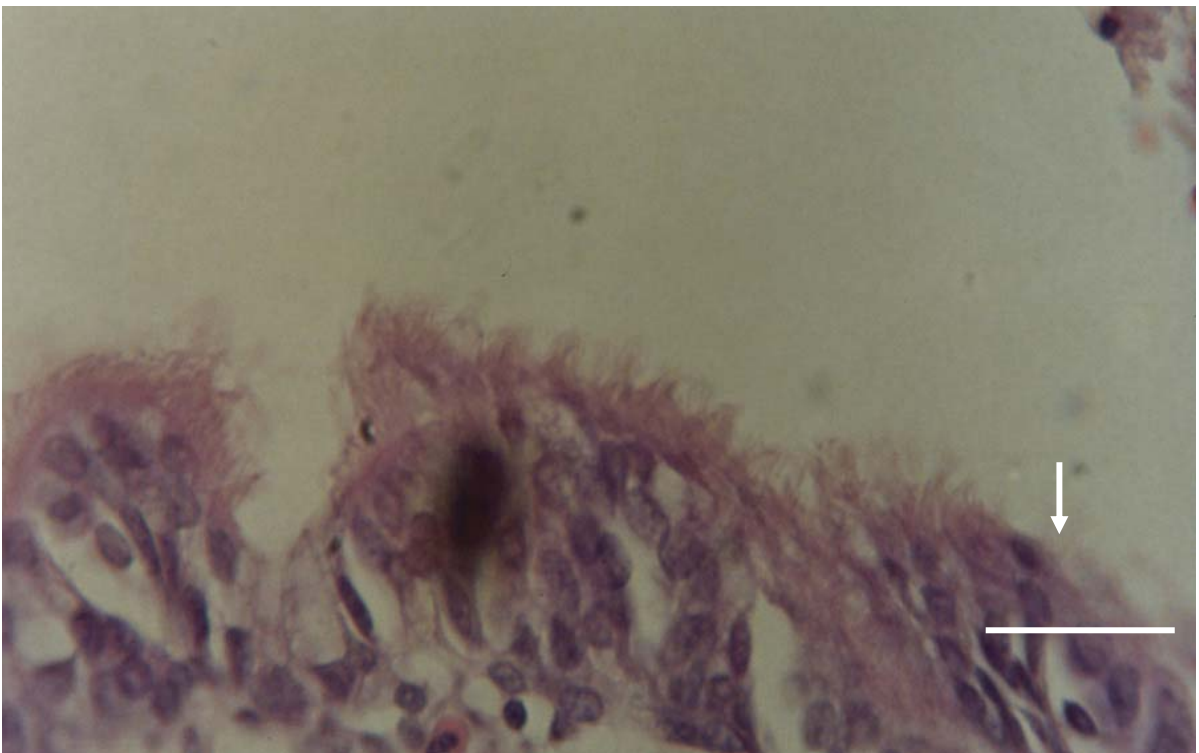


Figura 16. Fotomicrografia de corte histológico de cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. T2 (T2-Troca à cada nove horas). Notar a presença de áreas de deciliações (seta). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz Barra=50 μ m.



Figura 17. Fotomicrografia de corte histológico de cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto a fumigação com formaldeído no nascedouro,. T2 (Troca a cada nove horas). Notar a presença de heterófilo (seta). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra=50 μ m.

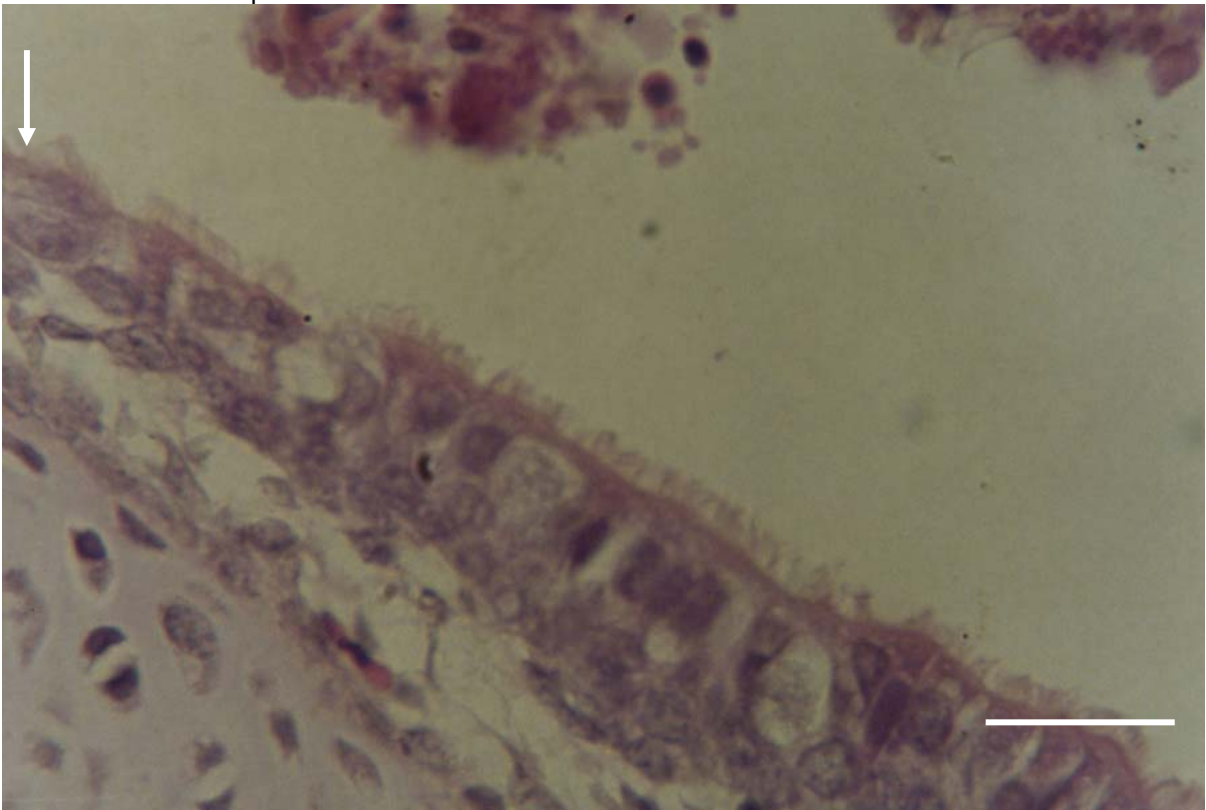


Figura 18. Fotomicrografia de corte histológico de cílios do epitélio pulmonar de pinto exposto à fumigação com formaldeído no nascedouro. T3 (Troca a cada doze horas). Notar a presença de área de deciliações (seta). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de Luz. Barra=50 μ m.

Nas Figuras 17 e 18 as setas mostram áreas de alterações ciliares em epitélio traqueal e pulmonar de pintos expostos ao gás formaldeído a cada 9 e doze horas, T2 e T3 respectivamente.

4.3 Avaliações de desempenho

Os resultados encontrados nas avaliações de desempenho estão expostos na Tabela 10 e nos gráficos 1 a 5.

Tabela 10. Médias dos índices zootécnicos de frango de corte expostos à fumigação com formaldeído no nascedouro

	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
Peso médio (Kg)	2796	2751	2772	2792
Ganho de peso (g)	66,6	65,5	66,0	66,5
Conversão alimentar/ (Kg)	1,78	1,73	1,77	1,72
Mortalidade	7,8	5,0	6,7	6,1
IEP	346,7	360,0	350,4	362,0

*Dados seguidos de letras iguais ou ausência de letras em uma mesma coluna não diferem estatisticamente ($P > 0,05$). Análise estatística T- Student com $\alpha \leq 0,05$.

Não houve diferenças significativas entre os índices analisados nos diversos tratamentos, desta forma a exposição de pintos ao formaldeído na máquina de eclosão não influenciou o desempenho zootécnico dos frangos. Resultados semelhantes foram relatados por Zulkifli *et al.* (1999).

Nos gráficos 1 a 5, a seguir, encontram-se as representações gráficas dos dados obtidos.

Gráfico 1. Representação gráfica dos resultados obtidos das avaliações de peso médio final de frangos de corte submetidos à fumigação com formaldeído no nascedouro, de acordo com os tratamentos.

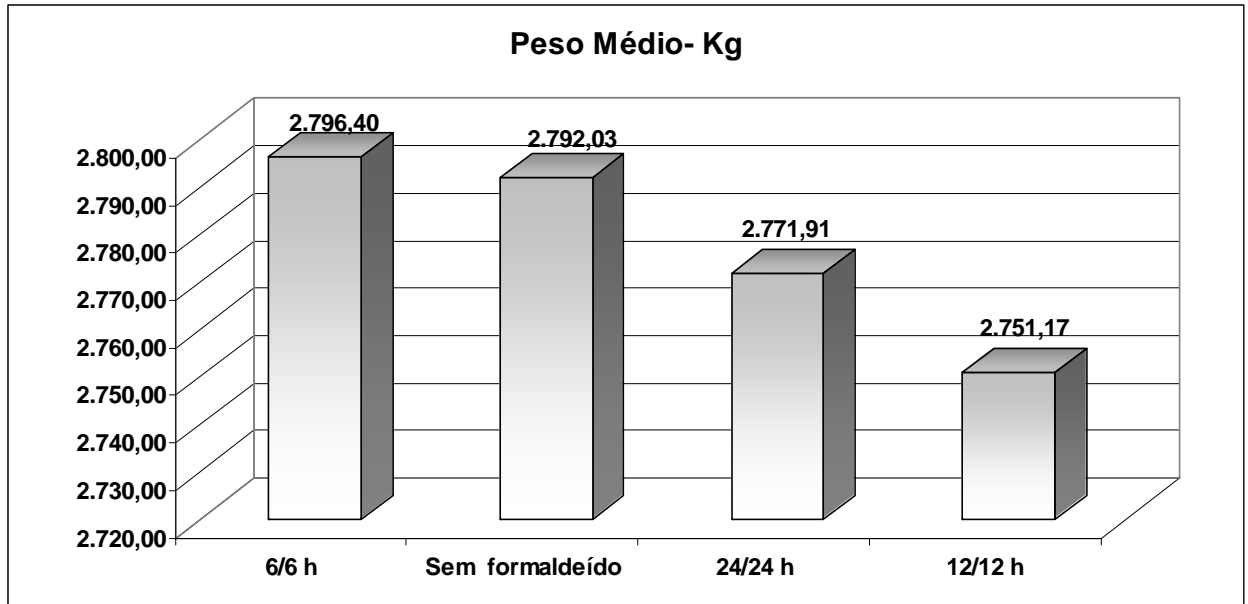


Gráfico 2. Representação gráfica dos resultados obtidos das avaliações de GPD de frangos de corte submetidos à fumigação com formaldeído no nascedouro de acordo com os tratamentos.

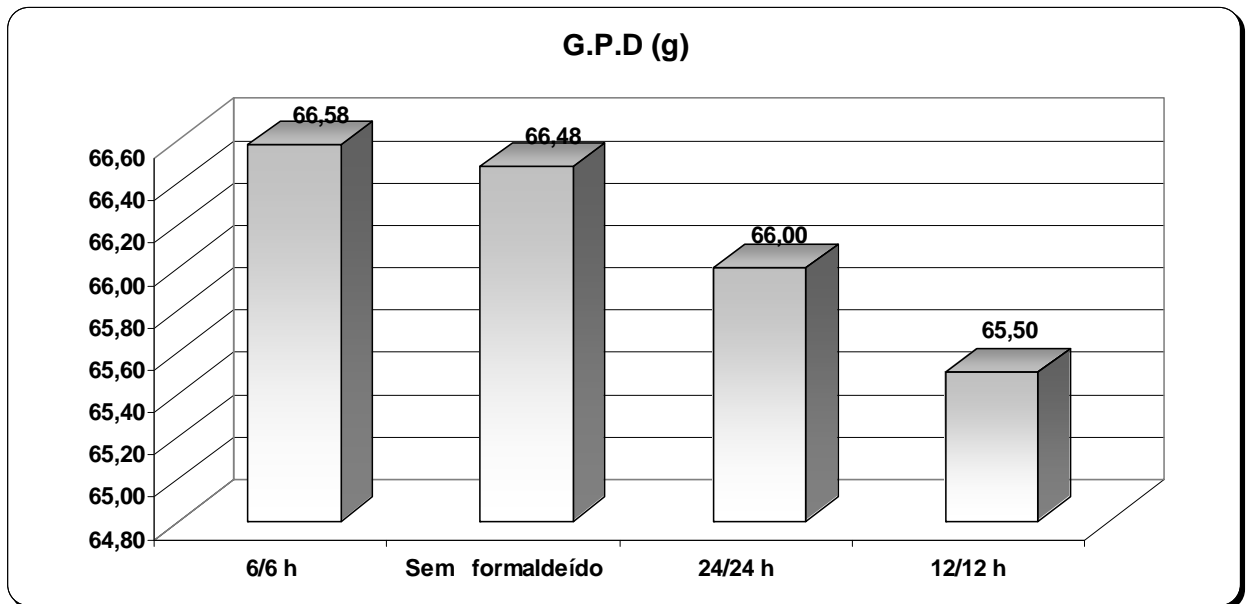


Gráfico 3. Representação gráfica dos resultados obtidos das avaliações de Conversão Alimentar de frangos de corte submetidos à fumigação com formaldeído no nascedouro, de acordo com os tratamentos.

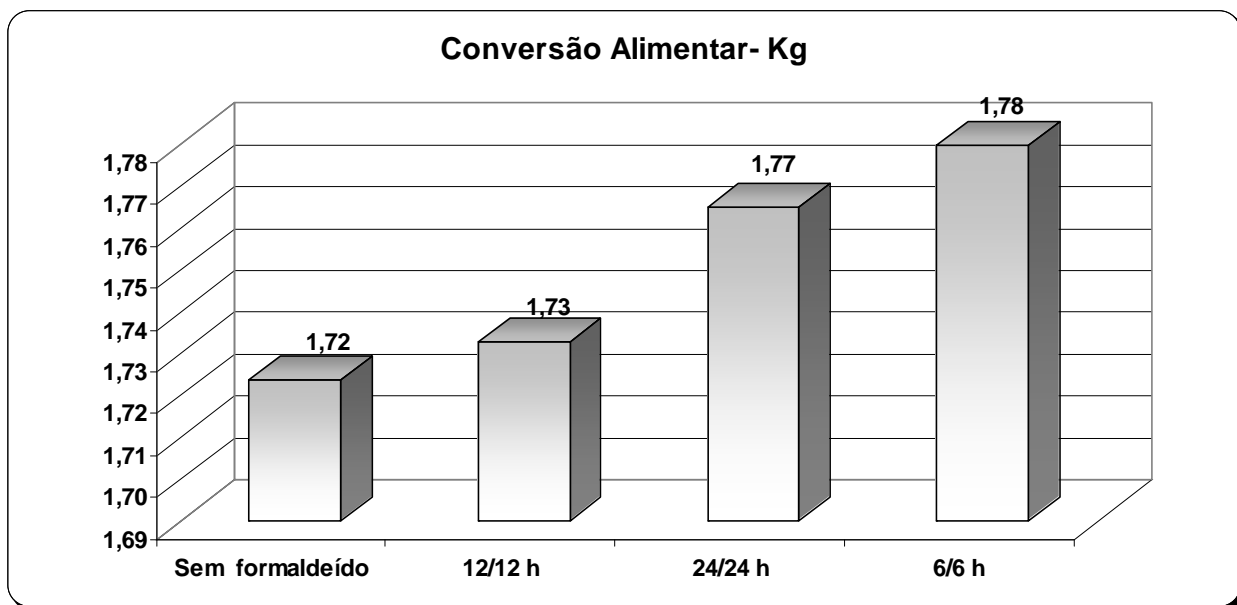


Gráfico 4. Representação gráfica dos resultados obtidos de mortalidade de frangos de corte submetidos à fumigação com formaldeído no nascedouro de acordo com os tratamentos.

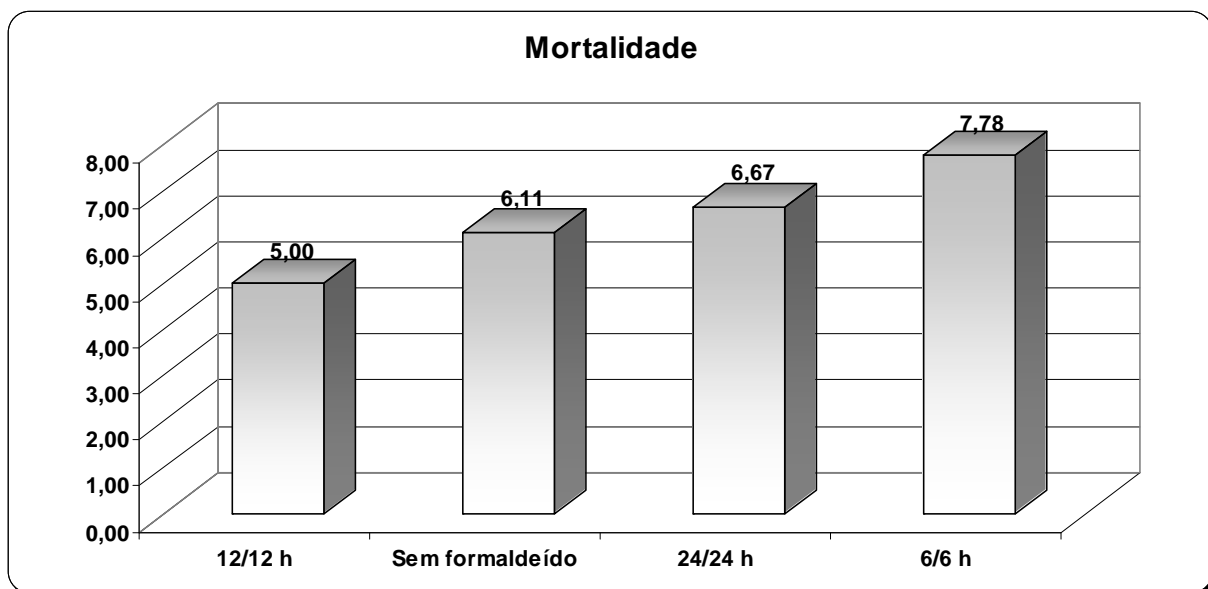
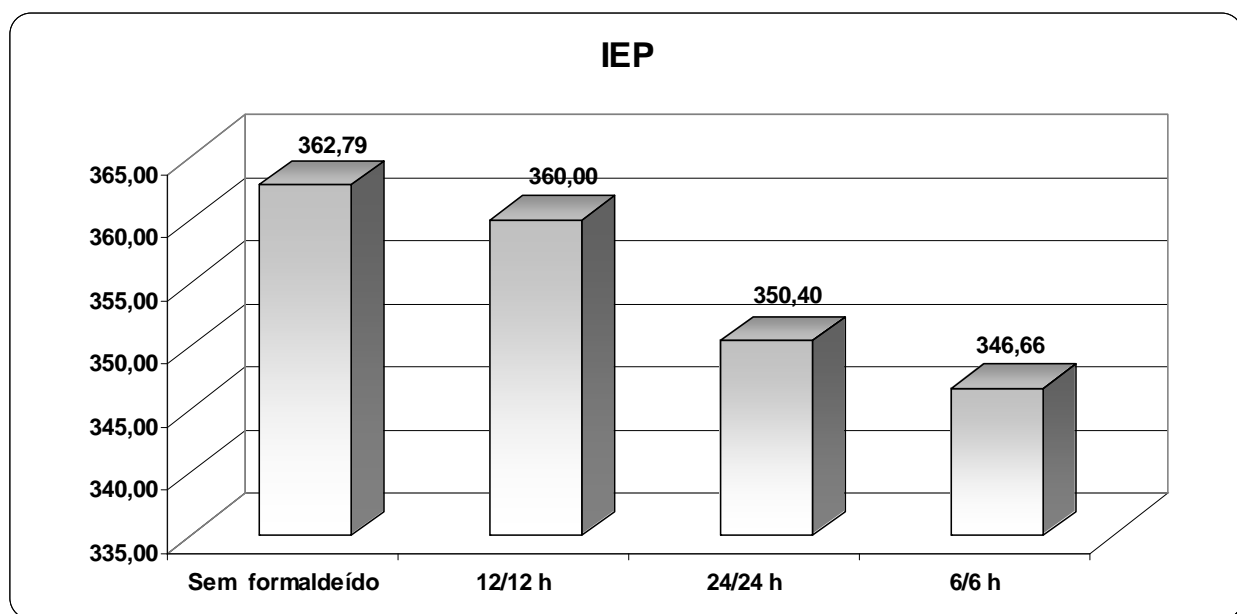


Gráfico 5. Representação gráfica dos resultados obtidos de IEP de frangos de corte submetidos à fumigação com formaldeído no nascedouro de acordo com os tratamentos.



Neste trabalho, as diversas alterações ultra e microestruturais observadas podem ser consideradas leves, não comprometendo o desempenho das aves, da mesma forma que relataram Zulkifli *et al.* (1999). Ao avaliar as diferenças nos índices zootécnicos entre frangos expostos e não expostos ao gás formaldeído, os autores não constataram diferenças quanto ao peso corporal, mortalidade, comportamento e ingestão de água e de alimentos entre as aves.

O gás formaldeído é utilizado em incubatórios para reduzir a contaminação ambiental das máquinas de incubação e eclosão (SANDER *et al.*, 1995, MICTCHEL, WALTMAN, 2003). A não-utilização desse método poderia levar à contaminação dos pintos, que teriam o seu desempenho zootécnico comprometido. Todavia, no presente estudo, a verificação dos resultados de desempenho das aves no campo demonstrou não haver diferença entre os tratamentos com ou sem o uso de formaldeído.

V. CONCLUSÃO

A utilização do gás de formaldeído durante todo o processo de eclosão causa alterações ultra e microestruturais na traquéia e pulmões de pintos de corte, sendo as mais freqüentes as áreas de deciliação, rupturas de membranas ciliares, aglutinação ciliar, áreas de descamação no epitélio e infiltrações de heterófilos. Estas alterações acontecem independentemente do intervalo de troca da solução de formalina no interior do nascedouro, ou mesmo quando não é utilizado gás de formaldeído na última etapa de desenvolvimento embrionário da ave, mas ele está presente no ambiente externo da máquina.

VI. REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. A. **Inoculação de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* sorovar enteritidis fagotipo 4 em ovos embrionados de duas linhagens de frango de corte.** 2005. 120 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. Descritores em Ciência da Saúde (DECS). Formaldeído. 2006. Disponível em: <<http://decs.bvs.br>>. Acesso em: 10 jan. 2006.

BOARD, R. G.; TRANTER, H. S. The microbiology of eggs. In: STADELMAN, W. J.; COTTERILL, O. J. (Ed.). 3. ed. **Egg Science and Technology**. Edinburg: Oliver and Boyd, 1986. p. 75-96.

BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists.** 2. ed. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 1998. 670p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Norma Regulamentadora nº 15/1990.** Disponível em: <<http://www.ufv.br/dpd/informius/legislacao/engproducao/nr15.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2007.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). **Resolução NR 714/2002.** Disponível em: <[http://www.ufmt.br/patologiavet/RESOLUÇÃO NR17 DE 20 DE JUNHO DE 2002.doc](http://www.ufmt.br/patologiavet/RESOLUÇÃO%20NR17%20DE%20JUNHO%20DE%202002.doc)>. Acesso em: 10 abr. 2007.

CAFÉ, M. B; GONZALES, E. Produção de pintos com qualidade total. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação.** Campinas: FACTA, 2003. Cap. 5, p.516-526.

CAMPOS, E. J. **Avicultura: razões, fatos e divergências.** Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2000. 311p.

CASTRO, A. G. M. Enfermidades do sistema respiratório. In: BERCHIERI JÚNIOR, A; MACARI, M. **Doenças das aves.** Campinas: FACTA, 2000. Cap. 2, p. 71-74.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). Formaldeído. 2007. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Emergencia/produtos/ficha_completa1.asp?>. Acesso em: 10 jul. 2007.

CONOVER, W.J.. **Practical nonparametric statistics**. 3. ed. New York: Ed. John Wiley, 1998. 584p.

DI MATTEO, A. M.; SONEZ, M. C.; PLANO, C. M.; von LAWZEWISTSCH. I. Morphologic observations on respiratory tracts of chickens after hatchery infectious bronchitis vaccination and formaldehyde fumigation. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 44, p. 507-518, 2000.

ELGUERA, A. M. Relação entre o manejo de reprodutoras de carne e a qualidade dos ovos incubáveis. In: SIMPÓSIO TÉCNICO SOBRE MATRIZES DE FRANGO DE CORTE, 2., 1999, Chapecó. **Resumos...** Chapecó: ACAV, 1999. p. 17-27.

FAUZIAH, O.; PURTON, M. D.; SOLOMON, S. E. Scanning electron microscopy of the respiratory epithelium of chicks fumigated with formaldehyde vapour. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 37, p. 563-570, 1995.

FEDDE, M. R., 1998. Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility. (Symposium: Infectious poultry diseases). **Poultry Science**, [S.l.], v. 77, p. 1130–1138, 1998.

FORMOL E DERIVADOS S. A. (FYDSA). Formaldeído. 2007. Disponível em: <<http://216.239.51.104/search?q=cachê:NNDYBlw00Y0J:www.pollinchem.com/FYDSA.html+Paraformalde%C3%ADdo+and+ercros&hl=pt-BR &ct=clnk&cd=1>>. Acesso em: 10 jul. 2007.

FREITAS, A. G.; COSTA, C. A. Pontos críticos no manejo de matrizes pesadas. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. **Manejo de matrizes de corte**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2005. Cap. 8, p. 173-184.

FURUTA, K.; NAKAMURA, K.; TANIGUCHI, T.; IMAI, M. Effect of formaldehyde fumigation at hatching on the respiratory tracts of a newly hatched chick. **Japanese Poultry Science**, Ibaraki, v. 26, n. 2, p. 108-113, 1986.

GODOY, J. C. Tendência do Mercado de Aves. **Avicultura Industrial**, Porto Feliz, n. 1085, 2001. Resumo disponível em: <http://www.aviculturaindustria.com.br/site/listaDinamica.asp?tipo_tabela=produtos&categoria=frango_de_corte>. Acesso em: 10 jan. 2006.

GUSTIN, P.C. Biossegurança no Incubatório. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. Cap. 3, p.247-349.

IDE, P. R. The sensitivity of some avian viruses to formaldehyde fumigation. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 43, p. 211-216, 1979.

MARQUES, D. **Fundamentos básicos de incubação industrial**. 2. ed. Amparo-SP: CASP S/A INDÚSTRIA E COMÉRCIO, 1994. 143p.

MITCHCHELL, B. W.; WALTMAN, W. D. Reducing airborne pathogens and dust in commercial hatching cabinets with an electrostatic space charge system. **Avian Diseases**, [S.l.], v. 47, p. 247-253, 2003.

MONTICELLO, T. M.; MILLER, F. J.; MORGAN, K. T. Regional increases in rat nasal epithelial cell proliferation following acute and subchronic inhalation of formaldehyde. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Raleigh, v. 111, p. 409-42, 1991.

MOUSTAFA, G.Z. Effect of sanitation on the microbial load and hatchability of broiler breeder eggs. **Veterinary Medical Journal**, Giza, v. 52, n. 4, p. 875-587, 2004.

PATRÍCIO, I.C. Manejo do ovo incubável da granja ao incubatório. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. Cap. 3, p.163-177.

PIMENTEL, G.F. **Curso de estatística experimental aplicada**. 11. ed. Piracicaba (SP): Ed. Universidade de São Paulo, 1985.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 221p.

SANDER, J. E.; WILSON, J. L. Effect of peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 43, p. 227-233, 1999.

SANDER, J. E.; WILSON, J. L.; ROWLAND, G. N.; MIDDENDORFF P. J. Formaldehyde Vaporization in the hatcher and effect on tracheal epithelium of chick. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 39, p. 152-157, 1995.

SONCINI, R. A., BITTENCOURT, F. L. Contaminação dos ovos após a postura. In: MACARI, M., GONZALES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: FACTA, 2003. Cap. 4, p. 437-450.

STEINLAGE, S. J. T.; SANDER, J. E.; WILSON, J.L. Comparison of two formaldehyde administration methods of in ovo-injected eggs. **Avian Disease**, Ithaca, v. 46, p. 964-970, 2002.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, A.M.I.; ZANATTA, G.F. Avaliação das condições sanitárias de pintos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 1-4, 2002.

TULLET, S. G. Science and the art of incubation. **Poultry Science**, [S.l.], v. 69, p. 1-15, 1990.

VALLE, R. B. Como maximizar o aproveitamento de ovos incubáveis. In: CONFERÊNCIA APINCO, 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: FACTA, 1997. p.145-159.

WALKER, S. E.; SANDER, J.E. Effect of biosentry 904 and ethylenediaminetetraacetic acid-tris disinfecting during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity of poultry. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 48, p. 238-243, 2004.

ZULKIFLI, I.; FAUZIAH, O.; OMAR, A. R.; SHAIPELLIZAN, S.; CELINA, S. A. H. Respiratory epithelium, production performance and behaviour of formaldehyde-exposed broiler chicks. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 23, p. 91-99, 1999.