

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

**EFEITO DA DESINFECÇÃO DE NASCEDOUROS
COM ÁCIDO PERACÉTICO E AMÔNIA
ASSOCIADA A GLUTARALDEÍDO SOBRE A
MUCOSA DE TRAQUEIAS DE PINTOS DE 1 DIA**

Patrícia Alves Teixeira
Médica Veterinária

**UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
2013**

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

**EFEITO DA DESINFECÇÃO DE NASCEDOUROS
COM ÁCIDO PERACÉTICO E AMÔNIA
ASSOCIADA A GLUTARALDEÍDO SOBRE A
MUCOSA DE TRAQUEIAS DE PINTOS DE 1 DIA**

Patrícia Alves Teixeira

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Emilio Beletti

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

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
AGOSTO - 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

T266e Teixeira, Patrícia Alves, 1985 -
2013 Efeito da desinfecção de nascedouros com ácido peracético e compostos
 quaternários de amônia associado a glutaraldeído sobre a mucosa traqueal de pintos
 de um dia / Patrícia Alves Teixeira. – 2013.
 36 f. : il.

Orientador: Marcelo Emílio Beletti.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Pintos de um dia - Teses. 2. Desinfetantes em
veterinária - Teses. I. Beletti, Marcelo Emílio. II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

PATRÍCIA ALVES TEIXEIRA - Nascida em 13 de agosto de 1985, na cidade de Uberlândia – MG. Em 2004, iniciou o Curso de Graduação em Medicina veterinária na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em Uberlândia-MG. Obteve o título de Medica Veterinária com a defesa da monografia desenvolvida na área de doenças parasitárias, intitulada “Eficácia de duas formulações anti-helmínticas no controle da verminose em cães”, em 2009. Em 2010, iniciou o Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, com ênfase em produção animal. Trabalha desde 2009, na empresa Sadia S/A, atualmente Brasil Foods, na área de reprodutoras de corte, matriz de frango de corte e atualmente com incubatório.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais, Rosana e Getulio, pelo apoio, incentivo e exemplo. Agradeço ao Prof. Marcelo Emilio Beletti, por me orientar e compartilhar esta pesquisa desde quando ainda era um projeto até a concretização final. E agradeço muito a toda equipe do Incubatório Diamante, e principalmente a Érica Crosara Ladir de Lucca, Adriana Tereza Machado de Moura Petrocelli e Valmor de Lima, que sem o apoio não seria possível a realização e execução deste trabalho. Agradeço também a empresa BRF que permitiu e apoiou a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	XI
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE TABELAS.....	XIV
RESUMO	XV
ABSTRACT	XVI
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Sistema respiratório e respiração das aves	13
2.2 Contaminação do ovo	15
2.3 Desinfetantes utilizados na avicultura.....	16
2.4 Métodos de desinfecção de nascedouros.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Delineamento.....	18
3.2 Parâmetros analisados	20
3.2.2 Avaliação de lesões por microscopia de luz.....	20
3.2.3 Avaliação das lesões por microscopia eletrônica.....	21
3.2.4 Análise Estatística	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

LISTA DE ABREVIATURAS

HE. Hematoxilina-Eosina

ICBIM-UFU. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia

M. synoviae. *Mycoplasma synoviae*

S. Pullorum. *Salmonella* Pullorum

S. Galinarum. *Salmonella* Galinarum

S. Typhimurium. *Salmonella* Typhimurium

T1. Tratamento 1

T2. Tratamento 2

T3. Tratamento 3

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotomicrografia de corte histológico de parede de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar na mucosa, todo epitélio ciliado, sem lesões. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm 26
- Figura 2.** Eletromicrografia de cílios da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Área com cílios íntegros e epitélio preservado. Escore 0. Barra = 1 μm 26
- Figura 3.** Eletromicrografia de cílio de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Área de membrana ciliar íntegra (setas). Escore 0. Barra = 100 μm 27
- Figura 4.** Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar áreas de ausência de cílios (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm 28
- Figura 5.** Fotomicrografia de corte histológico de cílios na mucosa da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar áreas de descamação (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 500 μm 28
- Figura 6.** Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto do grupo controle, sem exposição a desinfetantes no nascedouro. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm 30
- Figura 7.** Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amônia associada ao glutaraldído no nascedouro. Notar áreas de ausência de cílios (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm 30
- Figura 8.** Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amônia associada ao glutaraldído no nascedouro. Notar áreas de descamação (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm 31

Figura 9. Eletromicrografia da mucosa da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amôna e glutaraldeído no nascedouro. Notar aglutinação de cílios.

Barra = 2 μm 33

Figura 10. Eletromicrografia de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amôna e glutaraldeído no nascedouro. Notar vacuolização celular e área de desciliação. Barra = 5 μm 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escore Embrapa para avaliação da atividade ciliar em anéis de traqueias.....	21
Tabela 2. Descrição dos escores utilizados para avaliar o grau de lesões nos epitélios traqueais, pelo método de microscopia de luz.....	22
Tabela 3. Descrição dos escores utilizados para avaliar o grau de lesões nos epitélios traqueais, pelo método de microscopia eletrônica.....	24
Tabela 4. Mediana dos escores das avaliações de cilioestase, microscopia de luz e microscopia eletrônica.....	25

EFEITO DA DESINFECÇÃO DE NASCEDOUROS COM ÁCIDO PERACÉTICO E COMPOSTOS QUATERNÁRIOS DE AMÔNIA ASSOACIADA A GLUTARALDEÍDO SOBRE A MUCOSA TRAQUEAL DE PINTOS DE UM DIA

RESUMO - O presente estudo teve como objetivo identificar lesões no trato respiratório de pintos causados pelas desinfecções de nascedouros, realizadas por micro-aspersão com ácido peracético e amônia associada ao glutaraldeído. O experimento foi realizado em um incubatório no município de Uberlândia – MG, no mês de junho de 2013. Foram realizados três tratamentos, um tratamento por nascedouro, sendo que todos os nascedouros estavam na mesma sala e possuíam os mesmos mecanismos de controle de temperatura, umidade e ventilação. Os tratamentos foram: pulverização do nascedouro com solução de ácido peracético, diluição de 2 ml por litro de água – 300 ppm (T1), pulverização do nascedouro com solução de quaternário de amônia associada ao glutaraldeído, diluição de 1 ml por litro de água - 75 e 450 ppm (T2) e pulverização de água (T3 ou controle). Ao final de 48 horas nos nascedouros foram coletados 16 pintos de cada tratamento. Cada traqueia foi dividida em três amostras. Uma amostra foi fixada e processada para avaliação por microscopia de luz, outra amostra foi processada para avaliação por microscopia eletrônica de transmissão e o último fragmento foi analisado imediatamente após a coleta pelo método de cilioestase para avaliação de movimentação ciliar. Houve diferença significativa apenas no material avaliado por microscopia de luz entre os pintos expostos ao ambiente com amônia e glutaraldeído (T2) em relação ao grupo controle (T3), sendo que estes pintos tiveram lesões mais severas, como áreas de desciliação e áreas de descamação da mucosa traqueal. Os pintos expostos à desinfecção em nascedouros com ácido peracético não apresentaram lesões de mucosa traqueal. Portanto, utilizando-se as dosagens deste estudo o ácido peracético aplicado por pulverização é o desinfetante que melhor substitui o formaldeído para a redução da contaminação em ambientes de nascedouros em incubatórios comerciais, quando levado em consideração a suscitação de possíveis lesões traqueais.

Palavras-chave: desinfetantes, traqueia, cílios, nascedouros, incubatório e *Gallus gallus*.

**EFFECT OF HATCHERS DISINFECTION WITH PERACETIC ACID AND
QUATERNARY AMMONIA COMPOUNDS ASSOCIATED WITH
GLUTARALDEHYDE ON THE TRACHEAL MUCOSA OF ONE DAY OLD CHICKS**

ABSTRACT - This study aimed at identifying lesions in the respiratory tract of chickens caused by hatcher disinfection, performed by micro-sprinkler with peracetic acid and ammonia associated with glutaraldehyde. The experiment was conducted in a hatchery in Uberlândia - MG, in June 2013. Three treatments were performed, one treatment for hatcher, considering all hatcher were in the same room and had the same mechanisms of temperature, humidity and ventilation control. The treatments were: hatcher spraying with a solution of peracetic acid diluting two ml per liter of water – 300 ppm (T1) hatcher spraying with a solution of ammonia associated with glutaraldehyde diluting one ml of water per liter - 75 e 450 ppm (T2) and spraying water (T3 or control). At the end of 48 hours, 16 chicks per treatment were collected in the hatcher. Each trachea was divided into three samples. A sample was fixed and processed for evaluation through light microscopy, another sample was processed for evaluation through transmission electron microscopy and the last fragment was analyzed right after its collection through cilioestase method for cilia movement evaluation. There was a significant difference only in the material evaluated by light microscopy between chicks exposed to environmental ammonia and glutaraldehyde (T2) related to the control group (T3), considering that these chicks showed more severe injuries, such as areas with less cilia and areas of tracheal mucosa flaking. Chicks exposed to disinfection with peracetic acid in hatcher did not show lesions of the tracheal mucosa. Therefore, when using dosages of this study, the peracetic acid is the disinfectant which best replaces the formaldehyde to reduce contamination in commercial hatcher environments in hatcheries, considering the emergence of some possible tracheal lesions.

Keywords: disinfectants, trachea, cilia, hatcher, hatchery and *Gallus gallus*.

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira passou a ter uma maior intensidade no seu processo de produção devido a fatores como melhoria genética, introdução de novas tecnologias, uso de instalações mais apropriadas, alimentação racional e parceria entre produtor e a agroindústria. Desde então a avicultura passou a ter caráter industrial, impulsionada pelos constantes aumentos de produção (TAVARES; RIBEIRO, 2007).

O sucesso da industrialização da avicultura se deve aos altos padrões adquiridos ao longo dos anos em todos os pontos da cadeia produtiva. A produção de ovos incubáveis e de pintos de um dia são processos importantíssimos. Quanto maiores os cuidados relacionados às aves e aos ovos, melhores serão os resultados alcançados na produção de pintos que serão, mais tarde, um alimento que irá à mesa do consumidor (CONY, 2007).

O incubatório é um ambiente estratégico da produção avícola, fortemente vinculado à granja de matrizes, e recentemente reconhecido por influenciar no desempenho e no crescimento de frangos de corte (GONZALES; CAFÉ, 2003).

A principal meta do incubatório é transformar ovos férteis em pintos no volume, prazo e qualidade desejados, reduzindo a incidência de anormalidades e contaminação

, de forma a atender às necessidades e expectativas da produção avícola, ao menor custo. A preocupação da indústria avícola em manter altos índices de produtividade fez com que surgissem ações preventivas para evitar a introdução e permanência de agentes patogênicos dentro de um incubatório (HAYRETDAG; KOLANKAYA, 2008).

Dentre os procedimentos de biossegurança utilizados em incubatórios de frango de corte, a desinfecção de incubadoras e nascedouros é uma prática de rotina. A desinfecção de máquinas é vital a fim de proteger ovos e pintos contra doenças e reduzir o número de patógenos no ambiente de incubação. Após a oviposição há a contaminação da casca do ovo por micro-organismos presentes no

ambiente. As bactérias penetram a casca do ovo e infectam o embrião, resultando em mortalidades embrionárias e baixa qualidade de pintos (HAYRETDAG; KOLANKAYA, 2008).

Dentre os desinfetantes que são utilizados em incubatórios o formaldeído tem sido estabelecido como o desinfetante de eleição no processo de incubação e eclosão, devido à sua fácil administração e eficiência contra um largo espectro de microrganismos. As desinfecções são realizadas com o objetivo de reduzir a pressão de contaminantes dentro das máquinas de incubação e eclosão (FREITAS, 2007).

Porém, estudos mostram que o formaldeído causa lesões de descamação de cílios traqueais e lesões de membrana ciliar de pintos submetidos à desinfecção por fumigação em nascedouros (FREITAS, 2007). Além disso, atualmente os processos industriais buscam outros desinfetantes como substitutos ao formaldeído devido à proibição feita pela ANVISA, resolução RDC nº91/2008 (BRASIL, 2008). As soluções de ácido peracético e/ou solução de amônia associada ao glutaraldeído são os desinfetantes comumente utilizados em substituição ao formaldeído.

O objetivo do presente estudo é identificar possíveis lesões na traqueia de pintos causados pelas desinfecções de nascedouros, realizadas por micro-aspersão com ácido peracético e compostos de amônia quaternária associada ao glutaraldeído.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema respiratório e respiração das aves

O sistema respiratório das aves é muito diferente do sistema respiratório dos mamíferos. As aves têm pulmões rígidos de volume fixo e sacos aéreos complacentes que atuam para ventilar os pulmões (SOARES, 2013).

As aves também não possuem diafragma e os pulmões não colapsam quando ficam em contato com a atmosfera. Os brônquios comunicam-se com os sacos aéreos que estão distribuídos na cavidade toracoabdominal. Existem ao todo nove

sacos aéreos e seus volumes dependem do tamanho da ave; um frango de aproximadamente 2,9 kg, as capacidades volumétricas dos sacos aéreos somam um total de 298 mL (MALHEIROS; FURLAN, 2005).

A mecânica respiratória também é diferente nas aves. Na inspiração, o ar atmosférico é subdividido nos pulmões, certa quantidade de gás se movimenta através do neopulmo para dentro dos sacos aéreos toracicocaudais e abdominal; o restante do ar desloca-se através do paleopulmo para dentro dos sacos aéreos cervicais, clavicular e toracicocranial. Durante a expiração, o gás dos sacos aéreos toracicocaudal e addominal, passa novamente no neopulmo e desloca-se para o paleopulmo na mesma direção como durante a inspiração. O ar dos sacos aéreos cervical, clavicular e toracicocranial vão para a atmosfera, sem passar pela superfície de trocas gasosas novamente. Este movimento unidirecional dos gases no paleopulmo reduz os desvios do ar e aumenta a eficiência da ventilação (MACARI, MALHEIROS; FURLAN, 2005).

Durante o desenvolvimento embrionário a função respiratória se dá principalmente pela área vascular, membrana corioalantoide e pulmões. A área vascular desempenha papel importante na função respiratória aproximadamente do segundo ao sexto dia de incubação, neste momento inicia uma transição da área vascular para a membrana corioalantoide, que a partir do oitavo dia de incubação assume a função de trocas gasosas. A função da corioalantoide estende-se até quase a fase final da vida embrionária (BARBOSA, 2011).

O estágio de desenvolvimento do embrião divide-se em duas fases: pré-natal até a ocorrência da bicagem interna (cuja respiração ocorre através da área vascular e, posteriormente, da corioalantoide); e perinatal, que vai da bicagem interna até a bicagem externa da casca. Após a eclosão, a ventilação pulmonar é estabilizada e os pulmões assumem assim a função respiratória (BARBOSA, 2011).

O ar fornecido ao incubatório não é estéril, portanto, certa quantidade de microrganismos é carregada, continuamente, para as diferentes seções (LAMAS DA SILVA, 1981). As condições ambientais nas incubadoras e nascedouros industriais promovem o desenvolvimento embrionário, mas também podem aumentar a proliferação de microrganismos potencialmente patogênicos, devido a condições ótimas como temperatura em média de 37,5°C e umidade em torno de 82 a 85%.

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). É neste momento também, no início da respiração pulmonar, que o embrião respira as partículas contaminantes como fungos e bactérias, e inala juntamente partículas dos desinfetantes empregados em nascedouros comerciais (TESSARI et al., 2002).

2.2 Contaminação do ovo

A contaminação bacteriana é fator que contribui consideravelmente para redução da eclosão em incubatórios comerciais. Durante a incubação existem condições para a ocorrência e manutenção de microrganismos patogênicos. Quando os procedimentos de higienização e desinfecção não são bem executados aumentam as possibilidades de transmissão horizontal desses microrganismos (LYUTSKANOV; URUMOVA; ZHELEV, 2010).

Patógenos oportunistas como *E.coli*, *Proteus sp*, *Bacillus sp* e *Enterococcus sp*, são os principais causadores de onfalite, enfermidade que causa morte do embrião ou mortalidade elevada dos pintos nos primeiros dias após nascimento. Assim, é necessário ter um bom manejo de coleta de ovos nas granjas reprodutoras, a fim de reduzir o tempo de contato da casca com a cama e ninho, além de um bom método de desinfecção dos ovos após coleta (FERREIRA; KNOBL, 2009).

Além disso, a higienização feita em incubadoras e nascedouros, quando deficiente, pode colocar a perder todo trabalho de coleta, armazenagem e desinfecção dos ovos realizada nas granjas reprodutoras (CONY, 2007).

Sendo assim, controlar o estado sanitário de uma central de incubação, significa conhecer e manter sobre controle os tipos e a quantidade de microrganismos indesejáveis presentes neste ambiente (MARQUES, 1986). A biossegurança dos incubatórios compreende medidas que visam evitar a entrada de patógenos, reduzir os riscos de multiplicação e sua contaminação bacteriana e fúngica. Todas as práticas sanitárias têm como objetivo reduzir a carga de microrganismos do interior do incubatório (LAMAS DA SILVA, 1981).

2.3 Desinfetantes utilizados na avicultura

Durante a incubação, há condições para a ocorrência e manutenção de microrganismos nas incubadoras. Quando os procedimentos de limpeza e desinfecção no incubatório não são executados corretamente, aumentam as condições para transmissão de agentes infecciosos entre os lotes (LYUTSKANOV; URUMOVA; ZHELEV, 2010).

O processo de desinfecção é complexo e multifacetado, influenciado por diversos fatores e condições. Algumas delas relacionadas com a propriedade dos desinfetantes, outros para o tipo e resistência dos microrganismos ou condições ambientais na área onde a desinfecção ocorre (LYUTSKANOV; URUMOVA; ZHELEV, 2010).

Dentre os desinfetantes utilizados nos processos de desinfecção em incubatórios, o formaldeído tem sido estabelecido como o desinfetante mais utilizado no processo de incubação e eclosão (STEINLAGE et al., 2002). Porém, por ser considerado carcinogênico, a indústria vem substituindo o formaldeído por outros desinfetantes que oferecem menor risco aos trabalhadores (MORGULIS; SPINOSA, 2005).

Os aldeídos, como formaldeído e o glutaraldeído, são os desinfetantes de maior importância na avicultura, possuem amplo espectro de atividade contra microrganismos, incluindo os vírus; atuam alquilando grupos químicos existentes nas proteínas e nos ácidos nucleicos (MORGULIS; SPINOSA, 2005). 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 (FREITAS, 2007).

Além de formaldeído outro aldeído utilizado em processos de desinfecção de superfícies é o glutaraldeído. O glutaraldeído é um desinfetante de largo espectro, atua razoavelmente bem na presença de matéria orgânica, e o pH alcalino aumenta sua atividade antimicrobiana. Atua provocando uma alquilação de grupos amino e sulfidrílicos (-SH) de proteínas e do nitrogênio do anel da base purina dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) da célula bacteriana e, também, pode interferir nas proteínas da membrana e do citoplasma das bactérias. Eficaz contra todos os tipos de

microrganismos, inclusive vírus e esporos bacterianos e seu uso como esterilizante químico é ideal para artigos de borracha, plástico, metal e instrumentos delicados de corte (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006).

Segundo Cony (2007), a habilidade do glutaraldeído de destruição de esporos talvez seja a sua mais importante propriedade, visto que a atividade esporocida é uma rara característica em desinfetantes químicos. A 2% o glutaraldeído é mais eficaz contra esporos que o formaldeído a 8%. Atua nos microrganismos interagindo com as proteínas das células, causando uma aglutinação destas devido à formação de aberturas na parede celular pela ação do desinfetante nas camadas externas da célula.

O ácido peracético é um desinfetante que também pode ser utilizado tanto em processos de desinfecção de ovos, como nas desinfecções de incubatórios como substituinte do formaldeído. O ácido peracético (CH_3COOH) é preparado comercialmente a partir do peróxido de hidrogênio a 90%, ácido acético e ácido sulfúrico como catalisadores. É mais ativo como agente esporocida e bactericida do que o peróxido de hidrogênio (MORGULIS; SPINOSA, 2005), é um agente oxidante que age desnaturando as proteínas levando a alterações da permeabilidade da membrana celular (SALLE; MORAES, 2009). Em concentrações de 250 a 500 ppm o ácido peracético é eficaz contra ampla gama de bactérias dentro de 5 minutos em pH 7,0, na temperatura de 20°C. Na presença de matéria orgânica, é necessária uma concentração ligeiramente aumentada (MORGULIS; SPINOSA, 2005).

Por fim, os compostos de amônia quaternária (surfactantes catiônicos), também serão foco deste trabalho. Os compostos de amônia quaternária possuem propriedades efetivas contra bactérias (bacteriostáticos sobre os Gram negativos e bactericida sobre os Gram positivos). Tem atuação limitada em presença de matéria orgânica e em superfícies com restos de sabões e detergentes aniônicos. É efetivo contra vírus (boa atividade sobre os vírus envelopados e nula sobre os não envelopados), e fungos. Não é esporocida e nas soluções usuais não é irritante para a pele, nem corrosivo. A amônia quaternária tem ação em pH ácido e alcalino, é inodora, não mancha e tem rápida ação sobre microrganismos sensíveis a ela (SALLE; MORAES, 2009).

2.4 Métodos de desinfecção de nascedouros

Dois métodos de desinfecção de incubadoras e nascedouros são comumente utilizados: a desinfecção a seco (fumigação) e desinfecção úmida (pulverização). A fumigação a seco de nascedouros consiste em colocar pratos com formalina 37% dentro de cada nascedouro e fazer trocas da formalina em períodos de 6, 8 ou 10 horas. A pulverização de desinfetantes consiste em sistemas de spray automáticos instalados dentro dos nascedouros, programados para ligar e desligar em períodos pré-determinados, lançando soluções de desinfetantes na forma de gota grossa dentro do ambiente dos nascedouros (FREITAS, 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento

O experimento foi realizado em um incubatório no município de Uberlândia – MG, no mês de junho de 2013. O Trabalho foi aprovado pelo CEUA (Conselho de ética na utilização de animais) da UFU, sob o número de protocolo 062/13.

Foram utilizados 16 pintos de cada tratamento, no total de 48 pintos da linhagem Cobb, provenientes de matrizes da mesma idade, livres de *Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Pullorum*, *S. Galinarum* e *S. Typhimurium*.

Os ovos foram incubados em máquinas da marca Petersime, modelo VB504 de estágio múltiplo com capacidade para 50400 ovos, seguindo a rotina normal de incubação em um incubatório comercial. Antes da incubação todos os ovos foram submetidos aos mesmos procedimentos, desde a granja ao incubatório. Os ovos foram coletados e selecionados, retirando-se ovos deformados, trincados ou ovos com qualquer outra característica visual que pudesse interferir na qualidade do pinto.

O tempo total de incubação foi de 504 horas para todos os tratamentos, sendo que as 48 horas finais foram nos nascedouros, também da marca Petersime,

modelo KK168, com capacidade de 16800 ovos, onde os ovos e pintos foram expostos aos tratamentos deste estudo.

Foram realizados três tratamentos, um tratamento por nascedouro, sendo que todos os nascedouros estavam na mesma sala e possuíam os mesmos mecanismos de controle de temperatura, umidade e ventilação. O sistema de desinfecção era automático, sendo que a cada 30 minutos um jato de 45 mL de desinfetante era lançado dentro de cada nascedouro. Os tratamentos foram:

- T1 – pulverização do nascedouro com solução de ácido peracético a 15%. Diluição de 2 mL por litro de água (300 ppm),
- T2 – pulverização do nascedouro com solução de composto de amônia quaternária (cloreto de benzalcônio) associada ao glutaraldeído. Cloreto de benzalcônio a 7,5% (75 ppm) e glutaraldeído a 42,5% (425 ppm). Diluição de 1 mL por litro de água e,
- T3 – controle – pulverização de água.

Ao final de 48 horas nos nascedouros, foram retirados de dentro da máquina de eclosão de cada tratamento (mantendo a altura aproximada de 1,20 m em relação ao piso) 16 pintos. Os pintos estavam nas bandejas na parte traseira do carro de eclosão, como o bico de aspersão de cada máquina estava instalado na parede do fundo da máquina, nesta posição os pintos ficaram com exposição máxima aos produtos. Os pintos foram anestesiados utilizando os fármacos cloridrato de cetamina, na dose de 60 mg/kg, via de administração intramuscular e cloridrato de xilazina (CDB 09208), na dose de 15 mg/kg, via de administração intramuscular. Após anestesia os pintainhos foram sacrificados por deslocamento cervical.

Um fragmento de traqueia cervical médio de cada animal foi coletado e dividido em três amostras. Uma amostra foi fixada com glutaraldeído na concentração de 3% em tampão fosfato a 0,1 M e pH 7,2 para microscopia eletrônica de transmissão, outro fragmento foi e o último fragmento foi analisado em microscópio de luz imediatamente após a coleta para avaliar atividade ciliar.

3.2 Parâmetros analisados

O material coletado no incubatório foi preparado para as avaliações ultraestruturais 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 da atividade ciliar

Imediatamente após o sacrifício dos pintainhos e extração da traqueia, um dos fragmentos foi colocado em placa de petri contendo meio para manter os cílios em movimento. Foi utilizado meio composto por DMEN e TC199, na proporção de 2:1, a 38 °C.

Os critérios da avaliação da atividade ciliar estão descritos na Tabela 1, e seguiram os critérios utilizados pela Embrapa segundo o trabalho de Trevisol et al. (2011).

Tabela 1. Escore Embrapa para avaliação da atividade ciliar em anéis de traqueias.

Atividade de cílios	Velocidade do movimento	Grau
Todos	Vigoroso	Zero
Todos	Lento	1
Alguns	muito lento	2
nenhum	sem movimento	3

Fonte: Adaptado de Trevisol et al. (2011).

3.2.2 Avaliação de lesões por microscopia de luz

As amostras de traqueia fixadas em solução de formol 10% foram processadas de acordo com o protocolo clássico de inclusão em parafina. Os cortes foram de 6µm de espessura, sendo realizados dois cortes de cada traqueia

analisada. As lâminas foram coradas com a técnica usual para hematoxilina-eosina (HE).

As lâminas foram observadas em microscópio óptico com objetiva de 4x, 10x e 40x. As imagens das lâminas foram digitalizadas em microscópio Leica DM500 acoplado a câmera Leica ICC50, ligada a um computador PC contendo o software para captura e análise de imagem Leica LAS EZ.

As avaliações das lesões traqueais foram feitas seguindo o modelo de escores utilizado por Fauziah et al. (1995), apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos escores utilizados para avaliar o grau de lesões nos epitélios traqueais, pelo método de microscopia de luz.

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

Fonte: Adaptado de FAUZIAH et al. (1995)

3.2.3 Avaliação das lesões por microscopia eletrônica

As amostras fixadas em glutaraldeído na concentração de 3% em tampão fosfato a 0,1 M e pH 7,2, foram levadas ao Centro de Microscopia Eletrônica do ICBIM-UFU. As amostras foram recortadas em cubos de aproximadamente 1mm³ e colocadas em tampão fosfato a 0,1 M e pH 7,2 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 tampão fosfato a 0,1 M e pH 7,2 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 ultramicrotomo para obtenção de cortes ultrafinos, conforme descrito por Bozzola e Russel (1998).

Os cortes ultrafinos foram corados com acetato de uranila por 45 minutos, em estufa a 37°C e, posteriormente, com citrato de chumbo por trinta minutos, em temperatura ambiente, também com base em Bozzola e Russel (1998). A avaliação e a documentação fotográfica dos cortes ultrafinos foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão (Zeiss Eletron Microscope EM 109, acoplado a sistema de captura de imagem digital Olympus Megaview 3), sendo avaliados os graus de lesões conforme Tabela 3.

Tabela 3. Descrição dos escores utilizados para avaliar o grau de lesões nos epitélios traqueais, pelo método de microscopia eletrônica.

Escore	Descrição
0	Sem lesão
1	Poucas células com lesão de membrana superficial
2	Poucas células com alterações de estrutura ciliar e alterações discretas do citoplasma
3	Muitas células com alterações de estrutura ciliar e alterações discretas do citoplasma
4	Grande número de células com alterações citoplasmáticas severas, com áreas de perda de cílios e epitélio.

3.2.4 Análise Estatística

Por se tratar de avaliações subjetivas de escores, nas análises estatísticas foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis e o pós-teste de Wilcoxon (CONOVER,1998). Para todas as variáveis foi considerado um nível de significância de $\alpha \leq 0,1$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os escores das técnicas utilizadas para avaliação das lesões epiteliais estão na Tabela 4.

Tabela 4. Mediana dos escores das avaliações de cilioestase, microscopia de luz e microscopia eletrônica.

Método de Avaliação	T1	T2	T3
Cilioestase	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Microscopia de luz	1,5 ^{ab}	2,5 ^b	1 ^a
Microscopia eletrônica	1 ^a	2,5 ^a	2 ^a

Letras distintas na mesma linha representam diferenças estatísticas entre grupos ($p \leq 0,1$).

A técnica de cilioestase é comumente utilizada para avaliar atividade ciliar em culturas de traqueia. Petersen et al. (2012) utilizou da cilioestase para avaliar atividade ciliar de culturas de traqueia inoculadas com diferentes subtipos do vírus da influenza, já Winter, Herrler e Neuman (2008) utilizaram da técnica de cilioestase para avaliar a motilidade ciliar em culturas de traqueias inoculadas com o vírus da bronquite.

Neste trabalho a cilioestase foi aplicada para avaliar se os desinfetantes utilizados causaram alguma alteração da motilidade ciliar. Não houve diferença da atividade ciliar entre os grupos, sendo que a mediana dos três grupos testados foi escore 0, ou seja, as amostras mostraram atividade máxima de movimentação.

Assim, os desinfetantes utilizados neste estudo não causaram nenhuma alteração na atividade ciliar dos pintos testados, de acordo com a técnica de avaliação utilizada.

Também não foi observada diferença significativa na avaliação de microscopia de luz e microscopia eletrônica entre o grupo controle (T3) e o tratamento com ácido peracético (T1) (Figuras 1, 2 e 3). Este resultado concorda com o trabalho realizado por Khater et al. (2013). Khater e seus colaboradores utilizaram do ácido peracético na concentração de 0,05% na forma de banhos em aves poedeiras para o controle do parasita *Argas persicus*. Seus estudos mostraram que ácido peracético foi eficiente e não causou irritação respiratória ou lesões nos olhos e pele.

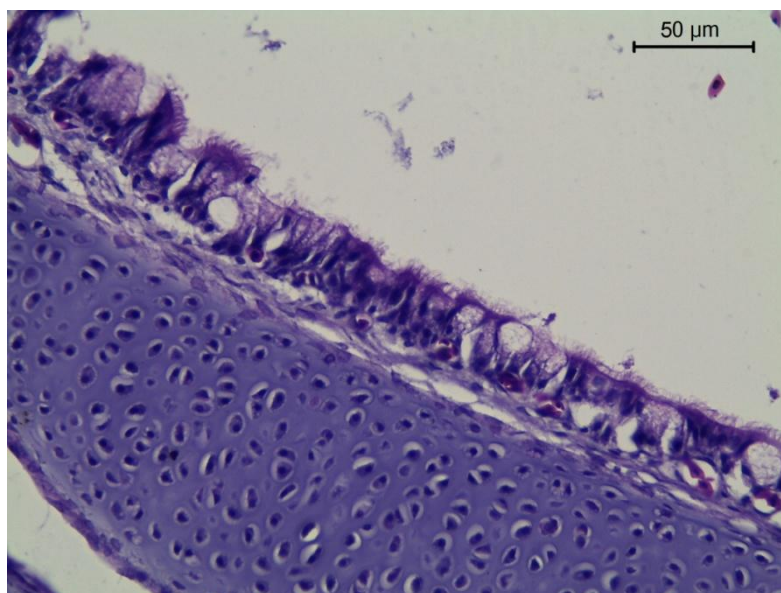


Figura 1. Fotomicrografia de corte histológico de parede de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar na mucosa, todo epitélio ciliado, sem lesões. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de luz. Barra = 50 µm.

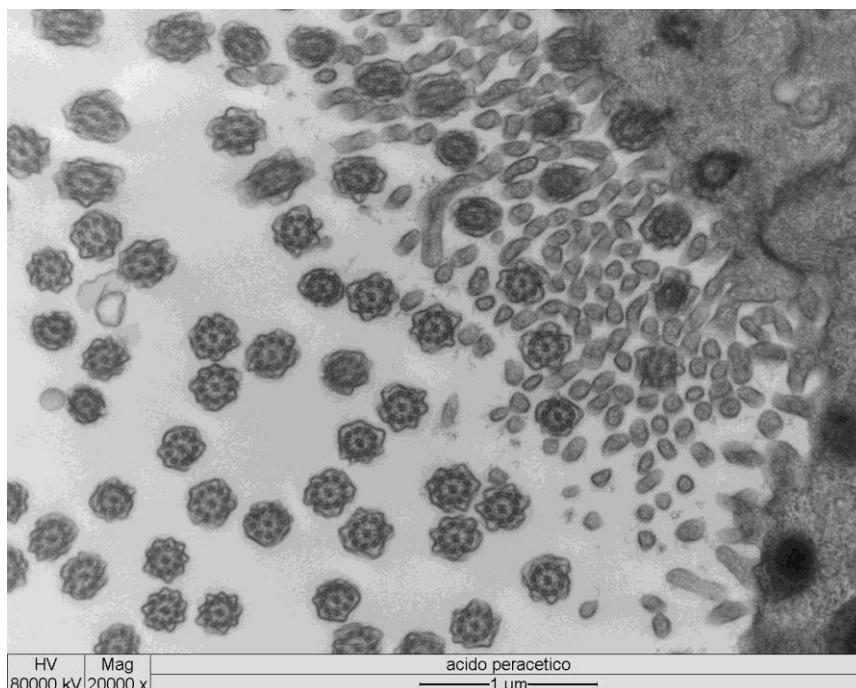


Figura 2. Eletromicrografia de cílios da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Área com cílios íntegros e epitélio preservado. Escore 0. Barra = 1 µm.

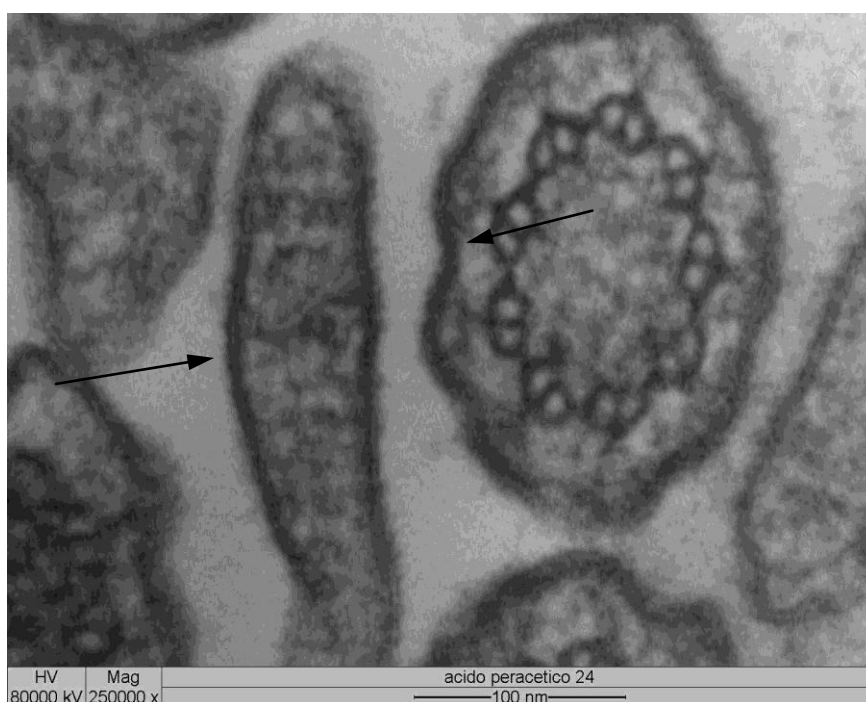


Figura 3. Eletromicrografia de cílio de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Área de membrana ciliar íntegra (setas). Escore 0. Barra = 100 µm.

Apenas 3 animais apresentaram lesões de escore 4 na microscopia de luz quando expostos a micro-aspersão com ácido peracético, apresentando lesões de descamação da mucosa, porém esses valores não foram representativos (Figuras 4 e 5).

Não foram observadas alterações histopatológicas na lâmina própria submucosa de qualquer dos materiais avaliados.

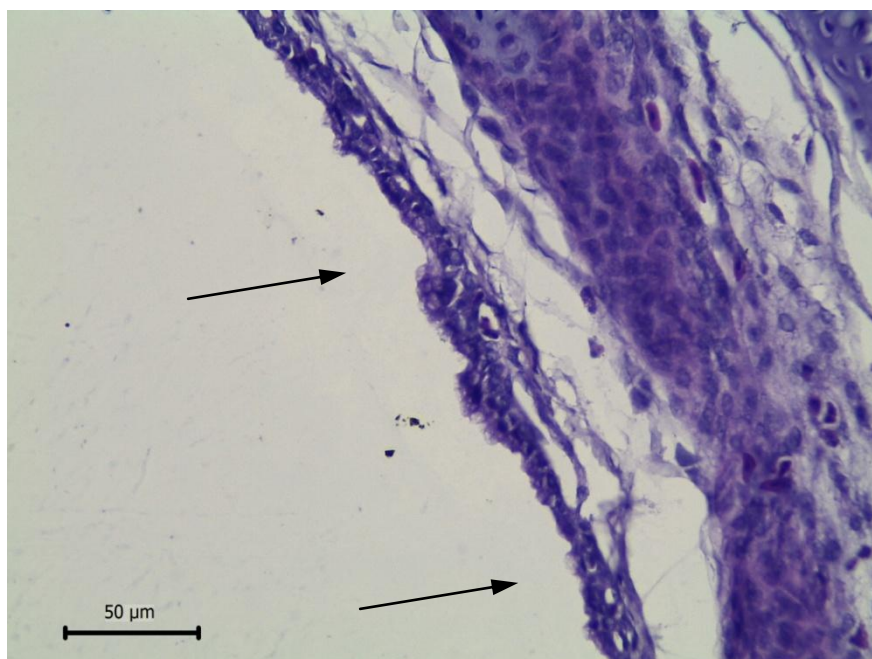


Figura 4. Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar áreas de ausência de cílios (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microscopia de luz. Barra = 50 μ m.

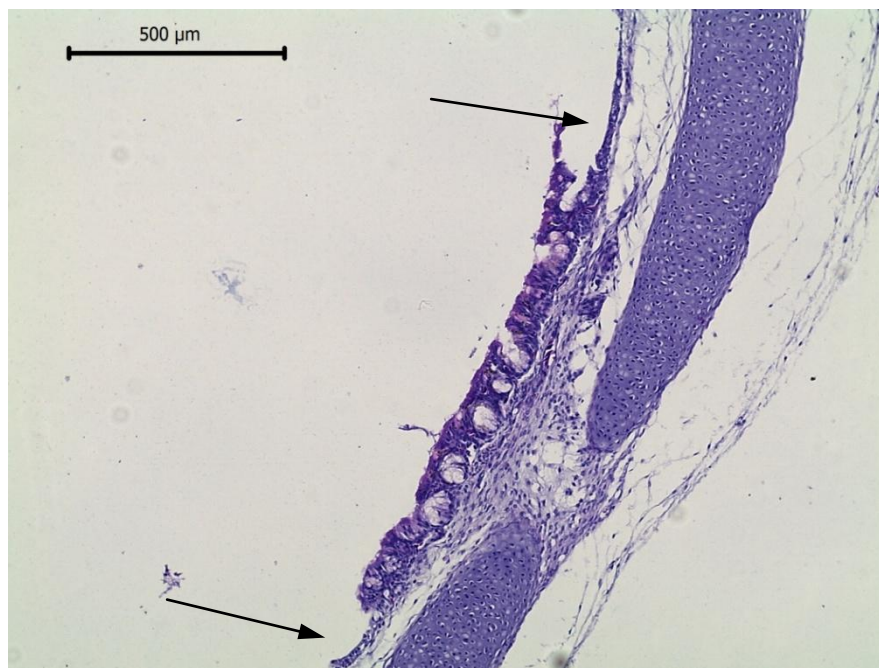


Figura 5. Fotomicrografia de corte histológico de cílios na mucosa da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com ácido peracético no nascedouro. Notar áreas de descamação (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 500 µm.

O ácido peracético apresenta vantagens a sua aplicação. O ácido peracético permanece ativo mesmo na presença de matéria orgânica, apresenta como produto de decomposição substâncias não tóxicas (ácido acético e oxigênio) e não mutagênicas, possui baixa dependência de pH e necessita de pouco tempo de contato para promover efetiva desinfecção. Além disso, o ácido peracético, na ausência de matéria orgânica, é mais eficaz que a amônia quaternária, hipoclorito de sódio e cloro ativo, frente à *S. Enteritidis* e igualmente efetivo, independente da matéria orgânica, frente ao *S. aureus* e *E. coli*, revelando-se uma opção válida para desinfecção na avicultura (LACERDA, 2011).

Em relação ao tratamento com quaternário de amônia e glutaraldeído houve diferença significativa apenas na microcopia de luz entre os pintos expostos ao ambiente com amônia e glutaraldeído (T2) em relação ao grupo controle (T3), sendo que estes pintos tiveram lesões severas, como áreas de desciliação e áreas de descamação da mucosa traqueal. As Figuras 6, 7 e 8 mostram as diferenças entre mucosas traqueais sem lesões e mucosas com lesões de descamação e ausência de cílios. Segundo o estudo realizado por Zeiger, Gollapudi e Spencer (2005)

semelhante aos efeitos relatados em seres humanos, os principais efeitos toxicológicos observados em animais expostos ao glutaraldeído são irritação quando inalado e quando em contato com a pele.

O glutaraldeído também é conhecido por causar irritação das vias aéreas quando inalado por funcionários que utilizam do glutaraldeído como desinfetante de materiais em hospitais. A American Conference of Governmental Industrial Hygienists estipulou que o valor limite de exposição ao glutaraldeído é de 0,05 ppm ($0,2\text{mg}/\text{m}^3$) (ZEIGER; GOLLAPUDI; SPENCER, 2005).

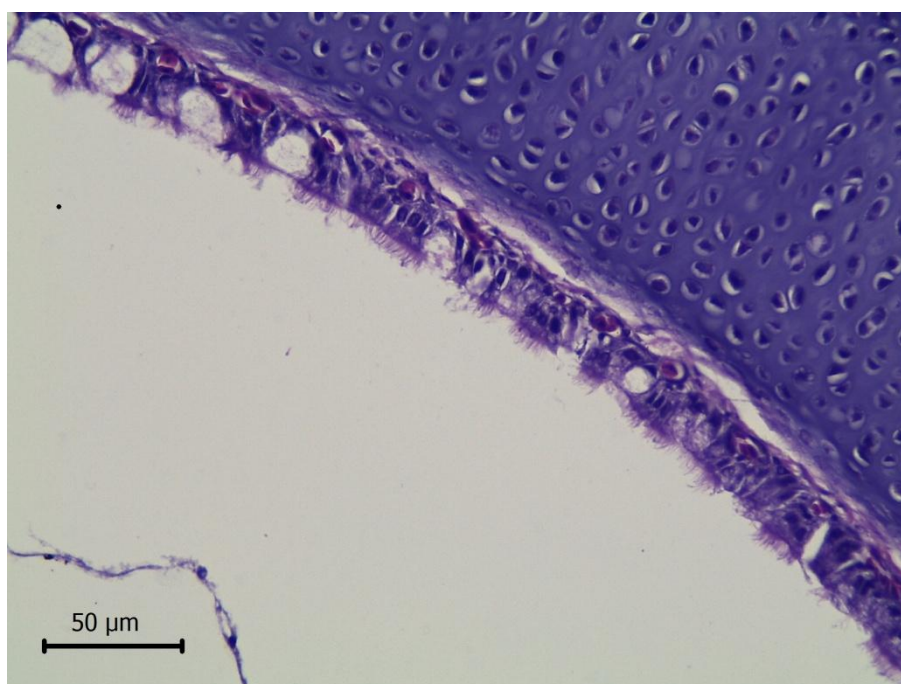


Figura 6. Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto do grupo controle, sem exposição a desinfetantes no nascedouro. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm .

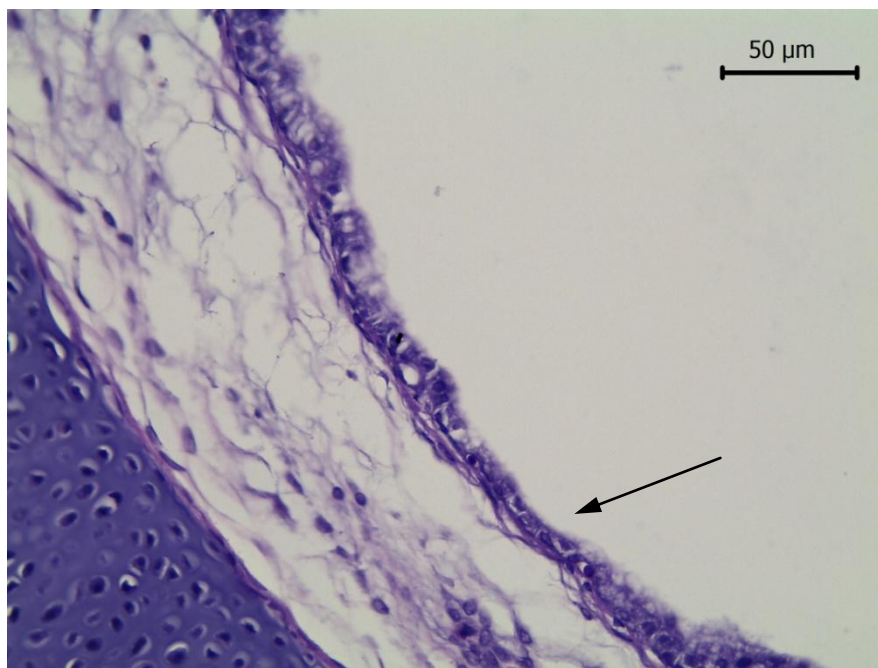


Figura 7. Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com quaternário de amônia associada ao glutaraldeído no nascedouro. Notar áreas de ausência de cílios (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm.

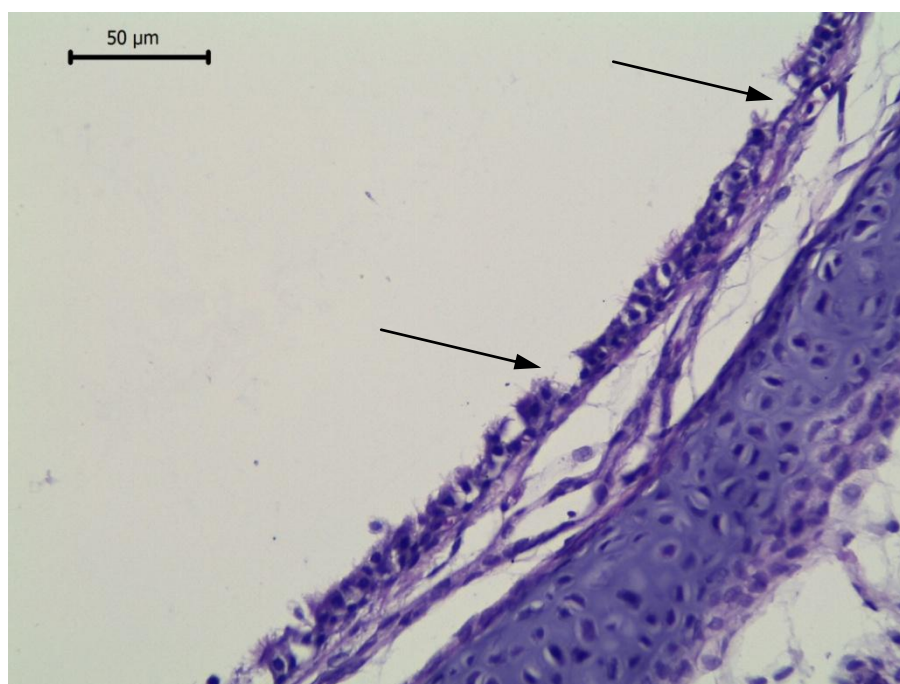


Figura 8. Fotomicrografia de corte histológico de cílios de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com quaternário de amônia associada ao glutaraldeído no nascedouro. Notar áreas de descamação (setas). Coloração: Hematoxilina e Eosina. Microcopia de luz. Barra = 50 μm.

O desinfetante utilizado em T2 é uma associação de amônia (7,5% e glutaraldeído a 42,5%). Vários desinfetantes a base de glutaraldeído são formulados com compostos de amônia quaternária para melhorar sua capacidade detergente. Mesmo assim, o glutaraldeído é considerado pouco eficiente em incubatórios por ser muito sensível às variações de pH. Por exemplo, uma pequena variação de pH pode resultar no aumento de até cinco horas para que o glutaraldeído destrua um microrganismo como a *E. coli* (MORGULIS; SPINOSA, 2005). Além disso, segundo Scott e Swetnam (1993) o glutaraldeído apresentou o maior custo quando comparado aos demais desinfetantes comumente utilizados em incubatórios para o processamento de 10.000 ovos desinfetados.

As lesões avaliadas pela microscopia eletrônica realizada nos pintos expostos ao ambiente com amônia e glutaraldeído (T2) não tiveram diferença significativa do grupo controle (T3). Este resultado também foi observado no trabalho de Essa, Mashhadani e Beck (1985), onde aves foram submetidas a ambiente atmosférico com diferentes concentrações de amônia e não houve diferenças observáveis na morfologia de pulmões e traqueias das aves.

Apesar dos escores avaliados na microscopia de luz não evidenciar diferenças entre os grupos testados, foram observadas lesões de degeneração celular, deciliação e aglutinação de cílios, conforme Figuras 9 e 10. A aglutinação ciliar pode ser causada pelo aumento de muco; esse tipo de lesão foi observado também por Freitas (2007) quando foi utilizado o formaldeído por fumigação em nascedouros.

Outro trabalho que referencia os efeitos tóxicos da amônia foi realizado por Preller et al. (1995) que verificaram a relação existente entre exposição à amônia e doenças respiratórias crônicas em suinocultores. Para verificar as diferentes formas de exposição que um suinocultor está submetido durante uma desinfecção de instalação foram testadas, dentre outras variáveis, a frequência de aplicação semanal (1 ou duas aplicações de amônia nas instalações), concentração do desinfetante e tempo de duração da aplicação do produto. Os resultados demonstraram que houve um maior número de suinocultores sintomáticos para doenças respiratórias crônicas quanto maior o tempo de exposição e frequência de aplicação do produto.

Outro aspecto importante que deve ser levado em consideração na utilização de desinfetantes é a degradação corrosiva dos equipamentos, decorrente do emprego de agentes químicos. Diversos produtos, embora eficientes no aspecto microbiológico, apresentam forte ação corrosiva, inviabilizando seu emprego. Segundo Ceretta (2008) o ácido peracético nas concentrações de 800, 1500 2500 ppm/ml pode ser utilizado com segurança em materiais de aço inox, cobre e platina. Além desses materiais o ácido peracético é utilizado em outras superfícies em incubatórios como peças em alumínio, borracha e plástico, onde seu efeito corrosivo pode deve ser melhor estudado.

O glutaraldeído possui efeito corrosivo menor que o ácido peracético e pode ser utilizado para artigos de borracha, plástico, metal e instrumentos delicados de corte (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006).

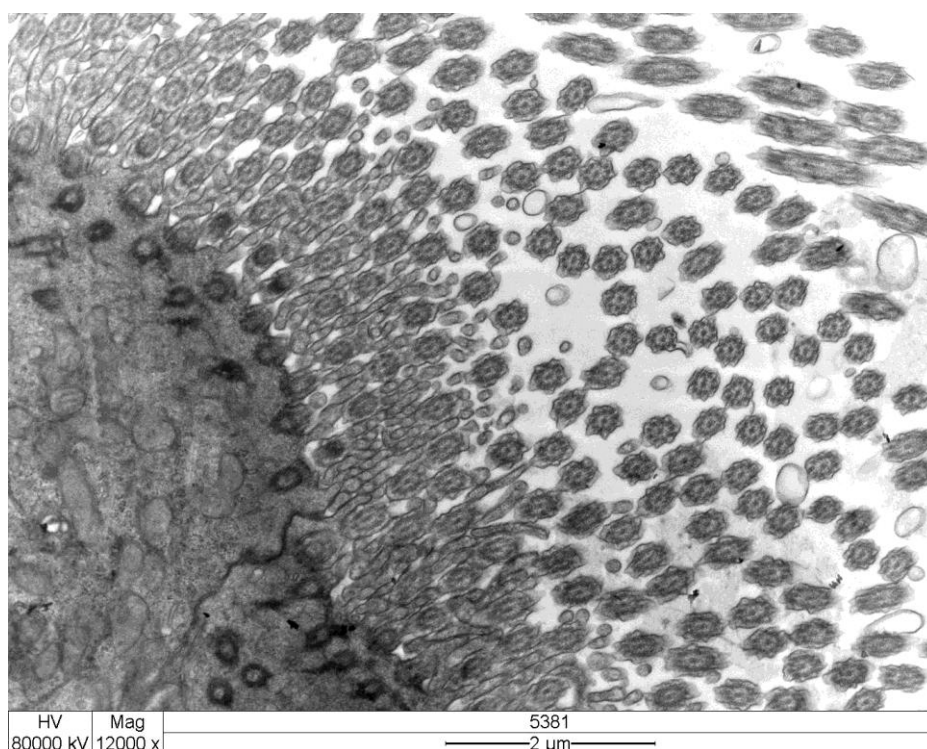


Figura 9. Eletromicrografia da mucosa da traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amônia e glutaraldeído no nascedouro. Notar aglutinação de cílios. Barra = 2 μ m.

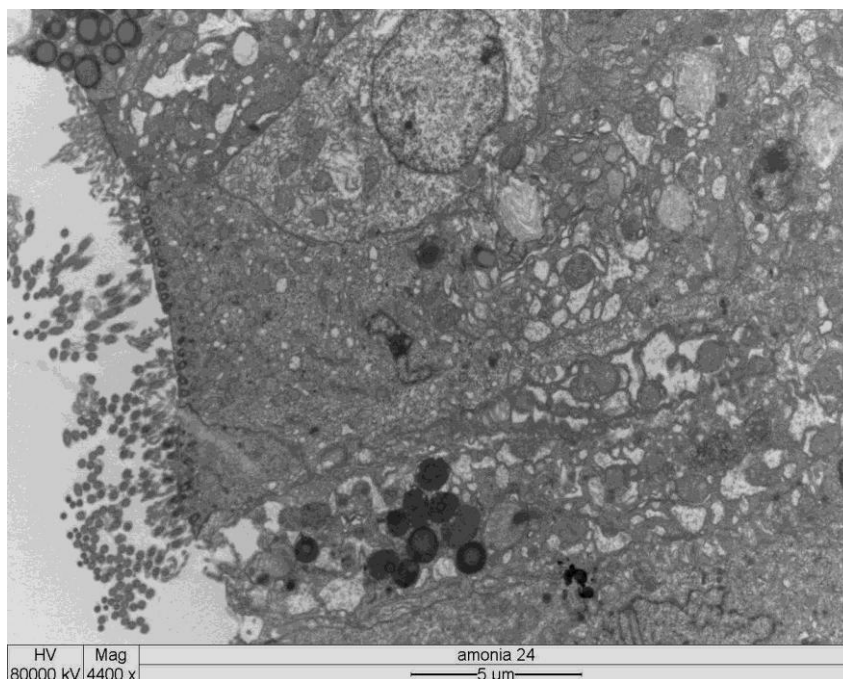


Figura 10. Eletromicrografia de traqueia de pinto exposto à micro-aspersão com amônia e glutaraldeído no nascedouro. Notar vacuolização celular e área de ausência de cílios. Barra = 5 µm.

5 CONCLUSÃO

Os pintos expostos à desinfecção em nascedouros com ácido peracético apresentam discretas lesões de mucosa traqueal não diferindo de animais que receberam micro-aspersão de água; já os pintos expostos à micro-aspersão com quaternário de amônia associada ao glutaraldeído apresentaram áreas de descamação e ausência de cílios. Assim, utilizando as dosagens deste estudo o ácido peracético é o desinfetante que melhor substitui o formaldeído para a redução da contaminação em ambientes de nascedouros em incubatórios comerciais, quando levado em consideração a suscitação de possíveis lesões traqueais. Mais estudos devem ser realizados para avaliar diferentes dosagens influenciando lesões do trato respiratório de pintos quando expostos a desinfecções em incubadoras e nascedouros, bem como para avaliar a eficiência na eliminação de agentes patogênicos e os efeitos dessas micro-lesões no desempenho produtivo dessas aves.

6 REFERÊNCIAS

BARBOSA, V. M. **Fisiologia da incubação e desenvolvimento embrionário**. Belo Horizonte: Roma Editora Gráfica e Acabamentos Ltda, 2011. 124 p.

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

BRASIL. Resolução RDC nº 91, de 28 de novembro de 2008. Proíbe o uso isolado de produtos que contenham paraformaldeído ou formaldeído, para desinfecção e esterilização, regulamenta o uso de produtos que contenham tais substâncias em equipamentos de esterilização e dá outras providências. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 de dezembro de 2008. Disponível em:

“<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/busca!/ut/p/c5/jZDNCoJAFIWf pRdwjjo_uhwVncnSLCVzIxYhQmqLKHr7INZJ9yw_Pu65l1RkytA8u7Z5dOPQ3EhJKI 7HmdlIRYLlp7gTQNN8rN_bT0DQnfuK1H0IFxQYA93zoiCWcZSmQWv_Y-DESS81MbKVnSiC0GbTnBS0Ujo4EwYCX969JIV37o3XpTdguBDcdhhlLmec2pQc50 8sXzbzhe6JGvsrufdFUb4Pu1auVh9JECiT/?1dmy&urile=wcm%3apath%3a//Anvisa Portal/Anvisa/Sala de Imprensa/Menu - Noticias Anos/2008 Noticias/Anvisa proibe uso de formol na composicao dos saneantes link>. Acesso em: 08 ago. 2013.

CERETTA, R. A. **Avaliação da eficiência do ácido peracético na esterilização de equipamentos odontológicos**. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2008.

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

CONY, Huldo Colares. **Métodos de desinfecção e princípios ativos desinfetantes e a contaminação, mortalidade embrionária e eclodibilidade de de ovos e embriões de aves**. 2007. 101 f. Zootecnia (Mestrado em Zootecnia, Produção Animal) - Departamento de Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

ESSA, H.; AL-MASHHADANI; BECK, M. M.. Effect of Atmospheric Ammonia on the Surface Ultrastructure of the Lung and Trachea of Broiler Chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 64, n. , p.2056-2061, 1985.

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.

FERREIRA, A. J. P.; KNOBL, T.. Colibacilose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. et al. **Doenças das Aves**. 2. ed. Campinas: Facta, 2009. Cap. 4, p. 457-471.

FREITAS, Adriana Garcia. **Efeito da fumigação de nascedouros sobre o trato respiratório e desempenho de frangos de corte**. 2007. 59 f. Pós-graduação em Ciências Veterinárias (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

GONZALES, E.; CAFÉ, M.B. Produção de pintinhos com qualidade total. In: MACARI, M.; GONZÁLES, E. **Manejo da incubação**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2003. p.515-526.

HAYRETDAG, S.; KOLANKAYA, D.. Investigation of the Effects of Pre-Incubation Formaldehyde Fumigation on the Tracheal Epithelium of Chicken Embryos and Chicks. **Turkish Journal Of Veterinary Animal Sciences**, [S.l.] v. 4, n. 32, p.263-267, 2008.

INOUE, A. Y.; CASTRO, Angelo Guilherme Machado de. Fisiopatologia do sistema Respiratório. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. et al. **Doenças das Aves**. 2. ed. Campinas: Facta, 2009. Cap. 3, p. 281-302.

KHATER, H. F. et al. The acaricidal efficacy of peracetic acid and deltamethrin against the fowl tick, *Argas persicus*, infesting laying hens. **Parasitology Research**, Berlin, v. 112, n. , p.259-269, 2013.

LACERDA, M. J. R. **Alternativas de sanitização em ovos comerciais**. 2011. 38 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal De Goiás, Goiania, 2011.

LAMAS DA SILVA, J.M. Controle sanitário do incubatório. In: CAMPOS, E.J.; LAMAS DA SILVA, J.M.; SILVA, E.M. **Produção e qualidade de pintos de um dia**. Brasília: EMBRAPA; 1981. p.147-153.

LYUTSKANOV, M.; URUMOVA, V.; ZHELEV, G. Comparative evaluation of the efficacy of various sanitizers in a poultry hatchery. **Bulgarian Journal Of Veterinary Medicine**, Stara Zagora, v. 13, n. 2, p.111-116, 2010.

MARQUES, D. *Manual do incubador*. Amparo: Ed. CASP, 1986. 214 p.

MACARI, M.; MALHEIROS, R. D.; FURLAN, R. L. Aspectos Anatômicos e Fisiológicos das Aves de Interesse Econômico. In: PALERMO NETO, João; SPINOSA, Helenice de Souza; GÓRNIK, Silvana Lima. **Farmacologia Aplicada a Avicultura: Boas Práticas de manejo de medicamentos**. São Paulo: Editora Rocca Ltda, 2005. Cap. 2, p. 11-35.

MITCHELL, B. W.; WALTMAN, W. D. Reducing airborne pathogens and dust in commercial hatching cabinets with an electrostatic space charge system. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 47, p. 247–253, 2003.

MORGULIS, M. S. F. A.; SPINOSA, H. S. Antimicrobianos: Desinfetantes. In: PALERMO NETO, João; SPINOSA, Helenice de Souza; GÓRNIK, Silvana Lima.

Farmacologia Aplicada a Avicultura: Boas Práticas no manejo de Medicamentos. São Paulo: Editora Rocca Ltda, 2005. Cap. 7, p. 105-113.

PETERSEN, H. et al. Replication and Adaptive Mutations of Low Pathogenic Avian Influenza Viruses in Tracheal Organ Cultures of Different Avian Species. **Plos One**, [S.l.], v. 7, n. 8, p.1-12, 2012.

PRELLER, L. et al. Lung function and chronic respiratory symptoms of pig farmers: focus on exposure to endotoxins and ammonia and use of disinfectants. **Occupational And Environmental Medicine**, London, v. 52, n. , p.654-660, 1995.

SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S. Prevenção de doenças: Manejo Profilático e monitoria. In: BERCHIERI JÚNIOR, Angelo et al. **Doenças das Aves**. 2. ed. Campinas: Facta, 2009. Cap. 1, p. 1-20.

SCOTT, T. A.; SWERNAM, C. Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. In: II Effectiveness against microorganisms on the egg shell. **Journal Applied Poultry Research**, [S.l.], v.2, p.7-11, 1993.

SOARES L. A. de S. (Rs) (Org.). **Aves e Ovos:** Anatomia e fisiologia reprodutiva das aves e formação do ovo. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 2005. 138 p. Disponível em: < <http://pt.scribd.com/doc/54064355/AveseOvosTexto>>. Acesso em: 01 jul. 2013.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. I.; BERNARDI, M. **Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 288 p.

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.

TAVARES, L. de P.; RIBEIRO, K. C. de S. Desenvolvimento da avicultura de corte brasileira e perspectivas frente a Influenza Aviária. **Organizações Rurais e Agroindustriais**, Lavras, v. 9, n. , p.79-88, 11 jun. 2007.

TESSARI, E.N. C., et al. Avaliação das condições sanitárias de um incubatório de pintos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.1-4, 2002.

TREVISOL, I. M., JAENISH, F.R. SILVA, V.S., et al. Otimização da avaliação da atividade ciliar em traqueias como parâmetro para determinar a eficácia de vacinas vivas de bronquite infecciosa. In: CONFERÊNCIA FACTA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2011, **Anais...** Santos:FACTA – Embrapa Suínos e Aves, 2011.

WINTER, C.; HERRLER, G.; NEUMANN, U.. Infection of the tracheal epithelium by infectious bronchitis virus is sialic acid dependent. **Microbes And Infection**, Hannover, v. 10, p.367-373, 2008.

ZEIGER, E.; GOLLAPUDI, B.; SPENCER, P.. Genetic toxicity and carcinogenicity studies of glutaraldehyde—a review. **Mutation Research**, Amsterdam, p.136-151, 2005.