

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

METODOLOGIA DE MORFOMETRIA INTESTINAL EM FRANGO DE CORTE

Autora: Marta Silvia Gava

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinária, na especialidade de Sanidade Avícola.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle

Co-Orientador: Dr. Lucas Brunelli de Moraes

PORTO ALEGRE

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

METODOLOGIA DE MORFOMETRIA INTESTINAL EM FRANGO DE CORTE

Autora: Marta Silvia Gava

Dissertação aprovada como requisito parcial para obter o  
título de Mestre em Ciências Veterinária, na especialidade de  
Sanidade Avícola .

Orientador: Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle

Co-Orientador: Dr. Lucas Brunelli de Moraes

PORTO ALEGRE

2012

Marta Silvia Gava

### CIP - Catalogação na Publicação

Gava, Marta Silvia Gava  
Metodologia de morfometria intestinal em frango  
de corte / Marta Silvia Gava Gava. -- 2012.  
59 f.

Orientador: Carlos Tadeu Pippi Salle.  
Coorientador: Lucas Brunelli Moraes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Avicultura. 2. Frangos de corte. 3.  
Morfometria. 4. Intestino. 5. Aves. I. Salle, Carlos  
Tadeu Pippi , orient. II. Moraes, Lucas Brunelli,  
coorient. III. Título.

**METODOLOGIA DE MORFOMETRIA INTESTINAL EM FRANGO DE  
CORTE**

Aprovada em 26 abril de 2012.

APROVADA POR:

---

Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes  
Membro da Comissão

---

Dr. Sérgio José de Oliveira  
Membro da Comissão

---

Dr. Luiz César Bello Fallavena  
Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela existência!

A minha família, que é tudo o que tenho de melhor!

A Nação brasileira, por poder estudar na UFRGS e ser beneficiada com bolsa de estudos do Programa de pós-graduação.

Aos familiares, amigos, colegas e professores que sempre me incentivaram em fazer o mestrado!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle, pela oportunidade da realização deste mestrado e toda sua dedicação e confiança, em mim depositadas!

Ao meu co-orientador, Dr. Lucas Brunelli de Moraes, o qual me auxiliou desde o principio deste mestrado com seus conhecimentos e principalmente no trabalho com imagens fotográficas.

Aos funcionários do CDPA, colegas, ex-colegas e amigos, em especial aos que me auxiliaram na execução do projeto e dissertação.

Aos membros da banca examinadora, por disporem de seu tempo em função da avaliação da dissertação e defesa.

A você, que está lendo esta e talvez eu não tenha citado! Mas teve sua participação de alguma forma!

Meu muito obrigado a todos!

## RESUMO

A avicultura brasileira é uma das áreas mais tecnificadas, produzindo com eficiência e exigindo máximo de desempenho da ave. Desta forma, existe uma constante busca para a manutenção de um bom *status* sanitário das aves, sendo que as patologias do sistema digestivo assumem um papel representativo. Com a crescente preocupação com a saúde intestinal das aves, têm sido realizados diversos estudos envolvendo a análise morfométrica do intestino. Este trabalho apresenta quatro experimentos distintos. O primeiro visa avaliar três porções intestinais (duodeno, jejuno e íleo) de 15 aves, com 13 dias de idade, para saber qual a melhor forma de clivagem para a obtenção do maior número de vilos viáveis para medição. Os intestinos foram coletados de duas formas, fechados e abertos. As amostras fechadas foram clivadas de forma transversal (T), hemicilindro (H) e longitudinal (L); já as amostras abertas apenas clivadas de forma transversal. Foram desidratadas, impregnadas em parafina e avaliadas os seguintes itens: número de campos observáveis e a contagem dos vilos viáveis para medição. O Experimento 2 foi realizado com 40 aves de 42 dias de idade, sacrificadas por eletrocussão. Foram coletadas porções do jejuno destes animais. O lúmen intestinal foi lavado com formalina a 10% e fixados no mesmo meio. Após clivadas (LC), foram confeccionadas lâminas histológicas e contado o número de células caliciformes e diversas estruturas mensuradas (altura e largura de vilo, altura do enterócito e do seu núcleo, altura dos microvilos, diâmetro de cripta e espessura de parede). No Experimento 3 foram utilizadas 20 aves (42 dias de idade) para a avaliação do efeito do tempos pós-morte sobre a morfometria intestinal. Foram estudados intestinos fixados imediatamente após o sacrifício do animais (T1), 10, 20, 30 e 60 minutos após a morte. O Experimento 4 consta da aplicação dos valores das variáveis do Experimento 2 na fórmula sugerida por Kisielinski *et al* (2002), para o cálculo da área da superfície de absorção intestinal, contudo teve caráter meramente ilustrativo. Analisando os resultados determinou-se que a porção intestinal que mais se presta a análise morfométrica é o jejuno, este coletado fechado e clivado na forma de hemicilindro. A avaliação morfométrica apresentou grande variabilidade, por este motivo se decidiu sugerir valores relativos ao invés de absolutos para estudos futuros. Foi observado, também, que somente as amostras coletadas em tempo menor de 10 minutos após a morte da ave são viáveis para o estudo morfométrico, seguindo o exigente protocolo estabelecido no presente estudo. Por fim, podemos afirmar que o estudo morfométrico intestinal requer uma série de cuidados, tanto para a obtenção das amostras, quanto para a análise das variáveis medidas.

## ***ABSTRACT***

Brazilian poultry is one of the most technologically advanced industries in this country, with efficient production demanding maximum performance to the bird. Thus, there is a constant search by maintaining good health status of the birds, and the digestive diseases play a representative role. With the growing concern to the intestinal health of birds, several studies have been conducted involving the morphometry analysis of the intestine. This paper presents four different experiments. The first one evaluated three intestinal portions (duodenum, jejunum and ileum) of 15 birds, 13 days of age, in order to know how was the best cut in the intestine to obtain the highest number of viable villi for measurement. The intestines were collected both open and closed. The samples were cut in cross, lengthwise and hemicylinder sections; whereas in the open samples were only made cross sections. All samples were dried, impregnated in paraffin and evaluated the following items: number of observable fields and villi that were feasible to perform measurements. Experiment 2 was conducted with 40 birds, 42 days old, from these animals were collected jejunum portions. The intestinal lumen was washed with 10% buffered formalin and fixed in the same way as in the first experiment. After the lengthwise-curved section, histological slides were prepared and counted the number of goblet cells and measured various structures as height and width of villus, enterocyte and its core, microvilli height, crypt diameter and wall thickness. In Experiment 3 were used 20 birds (42 days old) to evaluate the effect of the time postmortem over intestinal morphology. The intestines sections were studied immediately after birds sacrifice (T1), 10, 20, 30 and 60 minutes after death. In Experiment 4 was included the application of the values of variables obtained in Experiment 2 in the formula suggested by Kisielinski et al (2002), to determine the intestinal absorption capacity, but it had just illustrative character. The result analysis of experiments 1 to 3 showed that jejunum is the intestinal portion with better results for morphometric analysis, especially when the intestine is collected closed and the cuts are done as lengthwise-curve sections. The morphometric analysis showed a huge variability; therefore it was decided to suggest relative values rather than absolute values for future studies. It was also observed that only the samples collected in less than 10 minutes postmortem are viable for the morphometric study, following the demanding protocol established in this study. Finally, we can say that the intestinal morphometric study requires a lot of care, both for obtaining the samples, and for the analysis of the measured variables.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Formas de coleta das amostras de intestino e a nomenclatura para as distintas formas de clivagem dos órgãos.....	<b>21</b>
<b>Tabela 2</b>	– Grupos experimentais e os tempos de coleta após a morte dos animais.....	<b>33</b>
<b>Tabela 3</b>	– Valores médios das contagens do número de campos de observação das amostras de intestino de frangos de corte com 13 dias de idade...	<b>36</b>
<b>Tabela 4</b>	– Valores médios do número de vilos viáveis para medição das amostras de intestino de frangos de corte com 13 dias de idade.....	<b>37</b>
<b>Tabela 5</b>	– Relação da largura de cripta pela altura do vilo.....	<b>38</b>
<b>Tabela 6</b>	– Relação da altura do vilo pela largura do vilo.....	<b>39</b>
<b>Tabela 7</b>	– Relação da altura do enterócito pela largura do vilo.....	<b>40</b>
<b>Tabela 8</b>	– Relação da altura de microvilo pela altura do enterócito.....	<b>41</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> –	Clivagem Transversal de uma amostra de jejuno de frango de corte (T).....	<b>22</b>
<b>Figura 2</b> –	Clivagem de uma amostra de jejuno de frango de corte coletada Aberta e Grampeada (AG).....	<b>22</b>
<b>Figura 3</b> –	Clivagem Longitudinal de uma amostra de jejuno de frango de corte (L).....	<b>22</b>
<b>Figura 4</b> –	Clivagem em Hemicilindro de uma amostra de jejuno de frango de corte (H).....	<b>22</b>
<b>Figura 5</b> –	Imagem ilustrativa da contagem dos campos observáveis nas diferentes formas de clivagem das amostras.....	<b>23</b>
<b>Figura 6</b> –	Inserção de um vilo considerado viável para medição.....	<b>24</b>
<b>Figura 7</b> –	Corpo de um vilo considerado viável para medição.....	<b>25</b>
<b>Figura 8</b> –	Ápice de um vilo apto para medição, apresentando epitélio simples	<b>25</b>
<b>Figura 9</b> –	Medição da altura de um vilo considerado viável para medição.....	<b>28</b>
<b>Figura 10</b> –	Medição da largura de um vilo considerado viável para medição e da altura dos enterócitos.....	<b>29</b>
<b>Figura 11</b> –	Medição do diâmetro de uma cripta.....	<b>30</b>
<b>Figura 12</b> –	Medição da altura dos microvilos (e) e da altura do núcleo de um enterócito.....	<b>31</b>
<b>Figura 13</b> –	Medição da espessura da parede do jejuno.....	<b>32</b>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Anatomia e fisiologia do trato digestório.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Estrutura Histológica do intestino das aves.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Local do estudo.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Experimento 1 : Determinação da melhor forma de clivagem e dos segmentos do intestino que mais se prestam a morfometria.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.1.1</b>	<b>Aves.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.1.2</b>	<b>Coleta das amostras.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.1.3</b>	<b>Clivagem das amostras.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1.1.4</b>	<b>Processamento histológico.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1.1.5</b>	<b>Contagem dos campos de observação.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1.1.6</b>	<b>Contagem de vilos.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Experimento 2: Avaliação morfométrica de amostras de intestino de frangos de corte aos 42 dias de idade.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.1</b>	<b>Aves.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.2</b>	<b>Coleta das amostras.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.3</b>	<b>Clivagem das amostras.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.4</b>	<b>Processamento histológico.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.5</b>	<b>Obtenção das fotomicrografias digitais.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.2.6</b>	<b>Avaliação das estruturas selecionadas para medição.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1.2.6.1</b>	<b>Contagem de células caliciformes.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1.2.6.2</b>	<b>Altura dos vilos.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1.2.6.3</b>	<b>Largura dos vilos.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1.2.6.4</b>	<b>Diâmetro de criptas.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1.2.6.5</b>	<b>Altura do enterócito.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1.2.6.6</b>	<b>Comprimento do núcleo do enterócito.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1.2.6.7</b>	<b>Altura dos microvilos .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1.2.6.8</b>	<b>Espessura de parede.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1.2.6.9</b>	<b>Cálculo dos índices para as diferentes medições das estruturas intestinais.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Experimento 3: Influência do tempo de coleta para a avaliação morfométrica intestinal.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1.3.1</b>	<b>Aves.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1.3.2</b>	<b>Estabelecimento dos tempos de coleta.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1.3.3</b>	<b>Coleta das amostras.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1.3.4</b>	<b>Processamento histológico.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1.3.5</b>	<b>Obtenção das fotomicrografias digitais.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1.3.6</b>	<b>Avaliação das estruturas intestinais.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1.4</b>	<b>Experimento 4: Aplicação da fórmula, segundo Kisielinski <i>et al</i> (2002), para o cálculo da área de superfície absorptiva intestinal.....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	<b>Resultados do Experimento1.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Resultados do Experimento2.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Resultados do Experimento3.....</b>	<b>42</b>

<b>4.4</b>	Resultados do Experimento 4.....	<b>42</b>
<b>5</b>	DISCUSSÃO .....	<b>43</b>
<b>6</b>	CONCLUSÕES.....	<b>47</b>
<b>7</b>	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	<b>48</b>
	APÊNDICE A .....	<b>52</b>
	APÊNDICE B.....	<b>53</b>
	APÊNDICE C.....	<b>54</b>
	APÊNDICE D .....	<b>55</b>
	APÊNDICE E.....	<b>56</b>
	APÊNDICE F.....	<b>57</b>
	APÊNDICE G.....	<b>58</b>
	APÊNDICE H.....	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira atualmente é uma das mais eficientes e tecnificadas do mundo. Devido a esta alta eficiência, o Brasil produziu no ano de 2010 um total de 11.230.000 ton de carne de frango (UBABEF, 2012), demonstrando um crescimento de 11,38 % em relação a 2009, o qual produziu 10.980.000 ton. Este impulso de produtividade foi gerado principalmente pelo aumento do consumo interno e pela expansão de exportação em 5,1%, consolidando uma produção total de 69% para o consumo interno e 31 % para a exportação, gerando um consumo per capita de 44 quilos, contracenando com 29,9 quilos per capta em 2009.

Do total da produção brasileira de frango de corte de 2010, a produtividade entre os estados destacam-se Paraná com 27,77%, Santa Catarina 18,59%, Rio Grande do Sul 16,23% e São Paulo com 13,98 %.

A avicultura industrial brasileira é uma das áreas mais tecnificadas do agronegócio mundial, produzindo com eficiência e exigindo o máximo de desempenho da ave. Como reflexo destes resultados é que existe uma constante busca para a manutenção de um bom *status* sanitário da avicultura, a fim de impedir a quebra deste potencial produtivo. Neste cenário, as patologias que afetam o sistema digestório assumem um papel representativo, pois quando da sua ocorrência manifestam-se expressivamente através de perdas na maioria das vezes não calculadas, provocando assim a ruptura deste potencial econômico.

A avicultura no Brasil gera cerca de 4,5 milhões de empregos de forma direta e indireta, sendo responsável por 1,5 % do produto interno bruto, uma atividade tão importante econômica e socialmente, exige critérios objetivos fundamentados cientificamente, com probabilidade de erro e acerto calculados para dar sustentação às decisões que objetivarão a melhoria da produtividade dos plantéis e da qualidade dos produtos oferecidos aos mercados nacional e internacional.

Com o intuito de colaborar com a maior compreensão dos fenômenos que envolvem a avicultura, o presente estudo teve como objetivo estabelecer critérios claros para a melhor forma de coleta, de processamento e de análise morfométrica de amostras de intestino de frangos de corte.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Anatomia e fisiologia do trato digestório

O sistema digestório dos animais possui quatro funções básicas, são elas a apreensão, a digestão, a absorção e a eliminação do alimento (KAY, 1998). O sistema digestório das aves divide-se em cavidade oral, esôfago, papo, proventrículo, moela, intestino delgado, cecos, cólon e cloaca. (ITO *et al.*, 2009).

A cavidade oral consiste de bico que surge no oitavo dia de incubação em formato de uma saliência córnea conhecida por diamante, língua, glândulas salivares e faringe. Sua função está relacionada à apreensão, escolha e ingestão do alimento (BOLELI *et al.*, 2008).

O esôfago é um tubo relativamente longo, ele fica localizado entre a região orofaríngea e o estômago glandular. A parede ventro-lateral direita do esôfago apresenta um divertículo sacular, denominado de papo ou inglúvio, onde o mesmo tem a função primariamente de armazenar o alimento, em situações de escassez, o que não ocorre com aves que são alimentadas *ad libitum* (BOLELI *et al.*, 2008), e responde pela condução do alimento da faringe até o pro ventrículo. Para absorver e incorporar o alimento ao organismo, o mesmo deve ser quebrado em subunidades menores.

Nas aves o início da digestão ocorre no estômago, que é dividido em duas partes distintas: O proventrículo (estômago glandular) e moela ou ventrículo (estômago muscular ou mecânico). O Pro ventrículo realiza secreção de enzimas e ácidos, esta secreção tem sua liberação estimulada pela presença de alimentos. Do proventrículo o alimento é impulsionado para a moela, cujas contrações rítmicas e fortes, são as responsáveis pela trituração do alimento ingerido (BOLELI *et al.*, 2008).

O intestino delgado é porção mais longa do sistema digestório, sendo responsável pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes. A princípio considera-se o intestino delgado dividido em três regiões distintas (duodeno, jejuno e íleo) e que possuem estruturas histológicas características (BOLELI *et al.*, 2008; PIRLOT, 1976; MCLELLAND, 1975).

O duodeno consiste de uma alça intestinal localizada logo após o ventrículo, sendo a mesma constituída de porção proximal descendente e uma porção distal ascendente. Sua região é facilmente distinguível pela posição do pâncreas entre as duas

porções da alça e também pelo seu maior diâmetro. A porção ascendente é onde ocorre abertura dos ductos biliares e pancreáticos, que conduzem os sucos biliar e pancreático para o interior da região do intestino delgado (BOLELI *et al.*, 2008; MCLELLAND, 1975).

O jejuno é a região mais longa do intestino delgado (BOLELI *et al.* 2008) disposto em várias alças espiraladas. No desenvolvimento *in ovo*, ele está ligado ao saco do vitelo, o qual possui nutrientes para o desenvolvimento da mucosa intestinal. Na eclosão, o intestino continua ligado ao anexo embrionário. A absorção do vitelo termina por volta de 6 a 7 dias pós-eclosão, em galinhas e frangos. Após reabsorção total do saco de vitelo, resta um divertículo curto e cego remanescente do pedículo do saco do vitelo chamado de divertículo de Meckel, que permanece ligado ao jejuno, sendo esse divertículo um divisor do jejuno em duas porções, proximal e distal, sendo a primeira bem maior que a segunda (BOLELI *et al.*, 2008; MCLELLAND, 1975). O divertículo de Meckel é frequentemente usado como divisor entre jejuno e íleo (Duke *et al.*, 2006), no entanto, no presente trabalho foi adotado como esta estrutura sendo o divisor das porções do jejuno (MCLELLAND, 1975).

O íleo é contínuo ao jejuno, sendo delimitado anteriormente pela posição paralela ao ápice do ceco e posteriormente pelo ponto de ligação íleo-cecal ao intestino, onde se situam os cecos direito e esquerdo, estendendo-se esses na maior parte de comprimento do íleo (BOLELI *et al.*, 2008; MCLELLAND, 1975).

As glândulas anexas (fígado e pâncreas) facilitam ao intestino delgado as principais etapas químicas da digestão e absorção dos nutrientes.

O fígado realiza estocagem de carboidratos, gorduras e vitaminas. Ele realiza a secreção de bile, que é conduzido pelo ducto hepato-entérico diretamente para o duodeno. O conteúdo biliar emulsifica as gorduras presente no intestino delgado, formando complexos hidrossolúveis, facilitando absorção lipídica e ação das enzimas do pâncreas.

O pâncreas possui funções endócrinas que atua no controle de carboidratos e função exócrinas atuando na síntese de sais e enzimas digestivas (BOLELI *et al.*, 2008).

O intestino grosso nas galinhas é composto de um par de cecos, cólon (reto), e é contíguo a cloaca (BOLELI *et al.*, 2008; MCLELLAND, 1975). Os Cecos cólicos são estruturas pares em frango de corte e possuem formato sacular, dispostos paralelamente ao íleo, seu ponto de inserção determina o final do intestino delgado e o início do grosso (DUKE *et al.*, 2006; MCLELLAND, 1975). Este é responsável pela digestão microbiana

da celulose, sendo a absorção de água uma de suas funções, no ceco também ocorre síntese microbiana das vitaminas, porém aparentemente não há absorção das mesmas (PALERMO, 2005; DUKE *et al.*, 2006).

A função dos cecos tem sido estudada primeiramente em *Galliformes*, onde é observado uma evacuação do ceco a cada manhã, quando o resto do intestino é praticamente vazio, o ceco além desta função também retém fluidos e partículas com bactérias, sendo também um importante local de fermentação na maioria das aves herbívoras, também resulta na formação ácidos graxo de cadeia curta, vitaminas e aminoácidos (FARNER,1960).

Os cecos nas galinhas são divididos morfológicamente em três regiões, próximo ao ceco-cólico está a base do ceco, onde os vilos são bem desenvolvidos, na região medial onde tem o corpo do ceco, os vilos são pouco desenvolvidos, e a região distal ou ápice possui dobras longitudinais e vilos pequenos (DENBOW,1998 e DUKE *et al.*, 2006; HODGES, 1974).

O cólon ou reto, é curto e aproximadamente retilíneo com vilosidades, estende-se da junção íleo-cecal até a cloaca (DUKE *et al.*, 2006). O cólon tem a função de reter água e eletrólitos do conteúdo intestinal.

A cloaca é uma estrutura dilatada, no formato de uma bolsa sendo um compartimento comum aos sistemas digestório, urinário e reprodutivo. A cloaca é dividida em três partes, o coprodeu, urodeu e o proctodeu. O intestino grosso esvazia-se dentro do coprodeu, atuando como reservatório das fezes, já o sistema urinário e reprodutivo terminam no urodeu e a cloaca abre-se externamente através do proctodeu, onde faz retenção de água e (JUNIOR & BACHA, 2003)

## **2.2 Estrutura Histológica do intestino das aves**

A parede intestinal das aves, na sua camada mais próxima ao lúmen é composta de uma membrana mucosa, a qual é formada por uma camada superficial de epitélio cilíndrico (ou colunar) simples, uma camada de tecido conjuntivo de ligação e uma lâmina própria. A mucosa é delimitada externamente por uma fina camada de fibras musculares dispostas longitudinalmente, denominada de muscular da mucosa, sob qual está a submucosa que é composta de uma discreta camada de tecido conjuntivo frouxo, e a submucosa é pouco desenvolvida no intestino delgado. As principais camadas

musculares que compõe o intestino são: a camada circular (externa) e a longitudinal (interna) da muscular externa. Entre as duas há uma discreta camada de fibras elásticas, muitos vasos sanguíneos e plexos nervosos. A camada longitudinal as fibras envolve todo o intestino, exceto o ceco. Por último há a serosa ou membrana serosa caracterizada por um epitélio composto de células lisas e finas sobre uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo que possui umas poucas e pequenas fibras elásticas. Nesta região os vasos sanguíneos e nervos se encontram e associam com a camada do mesentério. (HODGES, 1974; BOLELI, 2008).

A mucosa do intestino é formada por uma camada de epitélio simples colunar (JUNIOR & BACHA, 2003 e HODGES, 1974), formada por um grande número de vilos, os quais além de variar o número, tamanho e forma de acordo com a região, e diminuindo de tamanho alargando-se gradualmente em direção aos cecos (JUNIOR & BACHA, 2003). A mucosa do intestino forma projeções ou protuberâncias de acordo com a região do intestino (HODGES, 1974). Os vilos são protuberâncias da lâmina própria no lúmen intestinal que servem para ampliar a digestão e área de absorção (YAMAUCHI, 2002).

A mucosa do intestino delgado torna-se mais delgada no sentido do duodeno para o íleo, assim as vilosidades se tornam mais curtas e a profundidade das criptas diminui. As vilosidades possuem forma elipsóide, sendo cobertas por enterócitos com microvilos e células caliciformes (DUKES, 2006).

As criptas intestinais, que são ductos levemente tortuosos e claustros, elas se abrem entre a base do vilos e a muscular da mucosa (HODGES, 1974, JUNIOR & BACHA, 2003). As criptas intestinais são definidas claramente dias após a incubação incrementando o número de células e o tamanho das criptas (GEYRA *et al*, 2001; UNI *et al* 2000). As criptas do duodeno em aves jovens consistem de uma invaginação tubular aproximadamente com 260µm de comprimento e 60µm de diâmetro, sendo possível dividir as criptas em três áreas, sendo elas metade basal; meio da cripta este onde ocorre um desenvolvimento regulamente rápido do epitélio no local e por último a zona de diferenciação qual consiste da abertura da cripta na região basal da área do vilos, esta zona de diferenciação de células intestinais inicia um processo de diferenciação e maturação de células, sendo este um processo gradual (HODGES, 1974),

Durante o desenvolvimento embrionário o epitélio intestinal forma invaginações e também se diferencia para formar vilos e criptas e depois ocorre a proliferação celular nos compartimentos nas criptas, envolvendo componentes na metade proximal do vilos bem diferenciados da metade distal do vilos, devido à diferenciação celular (GORDON *et al* 2008; SCOVILLE *et al*, 2008). Durante a incubação a cripta possui poucas células, e a invaginação não é completa, no entanto rápidas mudanças ocorrem após o nascimento, após 48 horas a invaginação se completa em todo o seguimento do intestinal delgado (GEYRA, 2001).

O intestino delgado é a porção mais longa do sistema digestório, sendo responsável pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes. A mucosa intestinal apresenta os vilos que são constituídos por três tipos de células distintas: os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendócrinas (HODGES, 1975). A proliferação dos enterócitos no jejuno das aves também ocorre ao longo dos vilos, diferente dos mamíferos que a mesma ocorre somente nas criptas (DIBNER, 2004). As células das criptas sofrem uma série de divisões mitóticas e vão migrando para o vilos e então diferenciam-se em 3 tipos de células com funções diferentes, onde temos os enterócitos que estão envolvidos com o estágio final da digestão de nutrientes, transporte absorção e regulação imune, já o outro tipo de células, as células caliciformes, secretam uma camada de muco protetora (POTTEN *et al.*, 1990; SCOVILLE *et al.*, 1995) O terceiro tipo de célula é enteroendócrina que libera os hormônios da digestão (FASINA, 2010).

Nas aves as células sofrem diferenciação enquanto vão migrando em direção ao ápice do vilos, e tornando-se células completamente funcionais em enterócitos ou células caliciformes ou enteroendócrinas, as mudanças que ocorrem são funcionais e estruturais, tendo os enterócitos uma vida em torno de dois dias, e trata-se do tecido de maior taxa de renovação celular. Esta diferenciação dos três tipos celulares pode dar origem a células responsáveis pela absorção, células produtoras de muco ou as células endócrinas. Isto depende da necessidade do intestino para desempenhar suas funções naquele momento (BOLELI *et al*, 2008). Enterócitos são as células responsáveis pela digestão final do alimento e pelo transporte dos nutrientes a partir do lúmen. Estes nutrientes são captados pelos microvilos, os quais formam uma borda estriada e que pode alcançar 0,7 $\mu$ m de altura na região das criptas e 0,3 $\mu$ m na região dos vilos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999; HODGES, 1974; DIBNER, 2004). Os enterócitos

são células de formato estreito e altas medindo acima de 50 $\mu$ m de altura e um máximo de 8 a 10 $\mu$ m de largura, sendo que estas medições foram realizadas de acordo com uma determinada idade não citada, seu tamanho podendo variar com a posição que elas ocupam na região dos vilos e também de acordo com a porção do intestino verificada (HODGES, 1974). As células das criptas sofrem uma série de divisões e vão migrando para o vilo e então se diferenciam em três tipos de células com funções diferentes, onde temos os enterócitos que estão envolvidos com o estágio final da digestão de nutrientes, transporte absorção e regulação imune, já o segundo tipo de células, são as células caliciformes, que secretam uma camada de muco protetora (POTTEN *et al.* 1990; SCOVILLE *et al.*, 1995). Elas, células caliciformes, possuem o formato típico de um cálice achatado, estão presentes entre o enterócitos, porém muito mais freqüente nas criptas que ao longo dos vilos, segundo Hodges, 1974. São secretoras de glicoproteínas, chamadas mucinas para proteger o epitélio intestinal da ação de enzimas digestivas e dos efeitos abrasivos do trânsito intestinal (MAIORKA, 2010; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). Este muco produzido pelas células caliciformes, protege também o intestino da presença do ácido gástrico e de patógenos como bactérias e vírus (DIBNER, 2004). Elas são encontradas em diferentes estágios de atividades variando de aparência grande a mais delgados (HODGES, 1974).

O terceiro tipo de célula é a enteroendócrina, que produz e libera os hormônios da digestão, os polipeptídicos e as monoaminas biogênicas, substâncias essas que participam na regulação da digestão, absorção e utilização dos nutrientes (JERRY, 1996; FASINA, 2010; MAIORKA, 2010; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999).

A proliferação de enterócitos das aves não ocorre somente nas criptas como é nos mamíferos, entretanto em aves o local de proliferação não está bem descrito até então. Desta forma o conceito de proliferação e maturação celular no intestino das aves vinha sendo definido da mesma forma que ocorre nos mamíferos, onde a sua proliferação ocorre na região de cripta, entretanto em galinhas poedeiras observou-se que as divisões mitóticas não se encontram somente nas criptas, ocorrendo também nas vilosidades (UNI *et al.* 1998). As criptas respondem por 55% das divisões mitóticas da proliferação celular do intestino, já a região média do vilo corresponde a 32 % e o ápice corresponde por 8% da proliferação (APPLEGATE *et al.*, 1999).

A borda em escova, a qual faz parte do enterócito que é formada por um arranjo de 1000 a 4000 microvilos/células (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999). Esses

microvilos aumentam a capacidade de absorção intestinal em torno de 14 a 40 vezes. As proteínas do esqueleto celular do bordo em escova estão posicionadas na parte apical das células epiteliais. Esta membrana apical contém enzimas que hidrolisam os dissacarídeos e dipeptídeos em monossacarídeos e aminoácido que são por sua vez absorvidos facilmente (JUNQUERIA & CARNEIRO, 1999).

Os enterócitos apresentam um processo de maturação que ocorre durante o processo de migração das criptas para o ápice do vilos. Esta maturação depende da síntese de proteínas estruturais, as quais são codificadas pelo genoma das células intestinais.

A dinâmica celular é um ponto chave na diferenciação e no número de células absorptivas – “fenótipo madura” – dos vilos (THOMSON *et al.*, 1996). A unidade funcional básica do intestino é a “cripta-vilos”, sendo que os enterócitos se proliferam na cripta e migram em direção ao ápice dos vilos onde sofrem processo de extrusão no final da sua vida útil. Cada vilos é suprido de células, geralmente, por três criptas, esse número é variável em cada espécie animal. A taxa de reprodução das células na cripta e a proporção de migração desses enterócitos são alteradas em vários estados fisiológicos ou patológicos (BOLELI *et al.*, 2008). A migração de novas células ocorre simultaneamente com a continuidade das suas perdas ou extrusão das células mais velhas da região do topo do vilos, a substituição ocorre através da divisão mitótica das células das criptas em tempo normal de disposição das mesmas células, porém de acordo com UNI *et al.* (1998) em animais jovens é mais rápido de que em animais velhos, variando esta reposição em 72 h até 4 dias de idade e 96 h em aves mais velhas

Com o objetivo de avaliar a mensuração da altura das vilosidades e a profundidade de criptas intestinais em frango de corte, submetidos à dieta de engorda e abate, além de suplementados com diferentes fontes alternativas de fósforo, ALVARENGA *et al.* (2004) coletaram anéis de 0,5cm de comprimento de cada um dos segmentos do intestino delgado de aves. Esses anéis foram fixados em formol a 10% por 48 horas. Após a fixação, os intestinos foram incluídos em parafina, sendo cinco cortes de cada fragmento (7µm) obtidos e corados com hematoxilina e eosina. Em cada corte histológico foram mensuradas as alturas de cinco vilosidades e a profundidade de cinco criptas intestinais.

Okamoto *et al* (2009) estudaram as alterações histopatológicas na mucosa intestinal de pintos, causada por *Salmonella Enteritidis*, logo após o tratamento com *Lactobacillus*. Os pesquisadores obtiveram amostras de 1cm de comprimento da porção proximal do duodeno, sendo estas coletadas abertas pela margem mesentérica e depois estendidas pela túnica serosa e fixadas em solução de Bouin (durante 18 horas). Os materiais foram recortados, lavados com álcool etílico 70% e sofreram processamento histológico para inclusão em parafina. Seis lâminas foram confeccionadas a partir de cortes semi-seriados de 5 $\mu$ m de espessura, com um intervalo de seis cortes entre os selecionados. Os materiais foram corados segundo a técnica de hematoxilina e eosina, procederam-se cinco medidas de comprimento das vilosidades de cada corte, totalizando trinta medidas por ave.

Em trabalho semelhante, com o objetivo de analisar os efeitos da toxoplasmose sobre a morfometria da parede intestinal e a dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos, Shiraishi *et al* (2009) utilizaram 16 frangos de corte, dos quais foram coletadas amostras de íleo. Os intestinos foram lavados com solução de NaCl 0,9% e fixados em solução de Bouin. As amostras foram desidratadas e incluídas em parafina, obtendo-se cortes de 4 $\mu$ m de espessura e corados com hematoxilina e eosina. Foram utilizadas imagens de 10x para medir a espessura total de parede intestinal, com objetiva de 20x mediu-se a espessura da túnica muscular e túnica mucosa e, por fim, com o aumento de 40x mediu-se a espessura da muscular da mucosa. No total foram realizadas 80 medidas de cada estrutura, distribuídas uniformemente em toda circunferência intestinal das amostras.

Nos trabalhos supracitados os autores não informam o tempo decorrido para coleta dos intestinos, assim como não descrevem os critérios para a medição das alturas dos vilos e da profundidade das criptas. Estes parâmetros podem ser importantes para uma ideal observação e medição das estruturas intestinas.

Maiores detalhes metodológicos foram descritos por Fukauama *et al* (2005), os quais avaliaram os efeitos da inclusão de extrato de orégano como aditivo promotor de crescimento nas rações sobre o desempenho de frango de corte, as característica anátomo-fisiológica do trato gastrointestinal (altura de vilosidade, profundidade de cripta e suas relações). Os pesquisadores trabalharam com 1440 frangos de corte e coletaram segmentos de intestino com aproximadamente 1,5cm de comprimento. As amostras foram cuidadosamente coletadas e lavadas imediatamente em água destilada,

identificados e fixados em solução de Bouin por 24 horas. Após este período as amostras foram transferidas para um meio de álcool 70%, onde permaneceram durante um mês até a confecção das lâminas. A confecção das lâminas para análise morfológica foi realizada segundo a técnica descrita por (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983) com algumas adaptações. Foram selecionados 10 vilos e 10 criptas, bem orientados, de cada região intestinal e medidos seus comprimentos ( $\mu\text{m}$ ) em linha reta. As medidas de altura das vilosidades foram tomadas a partir da base superior da cripta até o ápice da vilosidade e as criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta (FUKAUAMA *et al*, 2005).

Caruso e Demonte (2005) estudaram a inter-relação da fonte protéica da dieta em ratos com a histomorfometria da porção inicial do intestino delgado. Os pesquisadores também descreveram de forma mais abrangente a metodologia utilizada e os critérios de medição adotados. Os pesquisadores estudaram 16 ratos, dos quais o intestino delgado foi coletado (10 mm de comprimento), fixado em formol 10%, refrigerados por 24 horas e posteriormente transferidos para álcool 70%. Os materiais foram incluídos em parafina e duas lâminas por animal foram confeccionadas (coradas com hematoxilina e eosina). O comprimento da vilosidade foi tomado a partir da região basal da mesma, que coincide exatamente com a porção superior das criptas. Foi traçada uma reta entre os dois pontos da base e outra reta paralela a primeira, tangenciando o ápice do vilos, sendo que a distância entre estas duas retas corresponde ao comprimento do vilos. A profundidade de cripta foi tomada da sua base até a região de transição cripta-vilios. Foram medidos os comprimentos de 20 vilosidades e a profundidade de 20 criptas em cada lado dos cortes, além das áreas de 10 vilos e 10 criptas de cada lado na seqüência em que se encontravam. As estruturas foram medidas de ambos os lados do corte (direito e esquerdo) para se atenuar, através de médias, quaisquer alterações de mensuração devidas a uma possível inclinação da peça no momento da inclusão na parafina. No experimento foram mensuradas 160 vilosidades e 80 criptas por animal, totalizando 1280 vilosidades e 640 criptas por grupo.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Local do estudo**

O estudo foi realizado no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária – CDPA, na Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS e no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), em Eldorado do Sul.

O trabalho foi dividido em quatro experimentos distintos. O primeiro foi realizado para determinar a melhor forma de coleta e de clivagem dos materiais. O segundo experimento teve o objetivo de determinar as estruturas histológicas a serem medidas nos cortes de intestino. O terceiro para determinar o melhor momento de coleta pós-morte e no quarto experimento foi utilizada – de forma ilustrativa – a fórmula sugerida por Kisielinski *et al* (2002).

#### **3.1.1 Experimento 1 : Determinação da melhor forma de clivagem e dos segmentos do intestino que mais se prestam a morfometria.**

##### **3.1.1.1 Aves**

Foram utilizadas 15 aves – frangos de corte linhagem Cobb – com 13 dias de idade, criadas em gaiolas de metal com água e ração *ad libitum*. As aves foram sacrificadas por desarticulação cervical e após a constatação da morte dos animais, os mesmos foram necropsiados e coletados os fragmentos intestinais.

##### **3.1.1.2 Coleta das amostras**

Foram coletadas duas porções de aproximadamente 3cm de comprimento em cada um dos seguimentos intestinais (duodeno, jejuno, íleo) de cada uma das aves. Imediatamente após secção do órgão, com o auxílio de uma seringa com agulha, foi realizada a lavagem do lúmen intestinal com solução de formalina a 10% tamponada para a retirada do conteúdo luminal. Todas as amostras foram identificadas e acondicionadas individualmente em solução de formalina a 10% tamponada.

Cada segmento intestinal foi coletado de duas formas: fechado – sem a exposição da mucosa intestinal – e aberto – o qual teve sua mucosa exposta através de

uma incisão longitudinal no órgão e posteriormente grampeado em um cartão de papel de aproximadamente 3cmx2cm. O grampeamento se deu através da mucosa, fazendo com que a serosa do órgão permanecesse em contato com o cartão e o mesmo fosse fixado distendido.

Os fragmentos de intestino foram coletados dos diferentes segmentos do órgão, sendo as amostras de duodeno obtidas da porção descendente – próxima ao ventrículo – e da porção ascendente – limítrofe ao jejuno. Para o jejuno foram coletados fragmentos do jejuno proximal e do jejuno distal, tendo-se como delimitação entre as duas porções o divertículo de Meckel. Por fim, as amostras de íleo foram obtidas na porção localizada entre os cecos.

### 3.1.1.3 Clivagem das amostras

As amostras foram clivadas de distintas formas e com aproximadamente 1mm de espessura, sendo que as longitudinais possuíam, ainda, 15mm de comprimento (cortes longitudinal e hemicilindro), conforme segue.

Tabela 1 – Formas de coleta das amostras de intestino e a nomenclatura para as distintas formas de clivagem dos órgãos.

Tipo de coleta	Forma de clivagem
Amostras fechadas	Transversal (T) – Figura 1
	Longitudinal (L) – Figura 2
	Hemicilindro (H) – Figura 3
Amostras abertas	Aberto grampeado (AG) – Figura 4

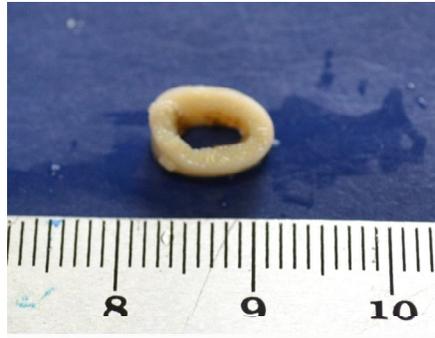


Figura 1 – Clivagem Transversal de uma amostra de jejuno de frango de corte (T)



Figura 2 – Clivagem de uma amostra de jejuno de frango de corte coletada Aberta e Grampeada (AG)



Figura 3 – Clivagem Longitudinal de uma amostra de jejuno de frango de corte (L)



Figura 4 – Clivagem em Hemicilindro de uma amostra de jejuno de frango de corte (H)

### 3.1.1.4 Processamento histológico

As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, clarificados em xileno, impregnados e incluídos em parafina. Os materiais sofreram microtomia para obtenção de cortes semi-seriados de 4µm de espessura e posteriormente corados com hematoxilina e eosina conforme Luna (1968).

### 3.1.1.5 Contagem dos campos de observação

Utilizando um microscópio óptico (objetiva de 10x) foram realizadas as contagens dos campos de observação microscópica para cada tipo de corte (figura 5). Cada porção intestinal foi avaliada e o número total de campos observáveis foi determinado e devidamente registrado.

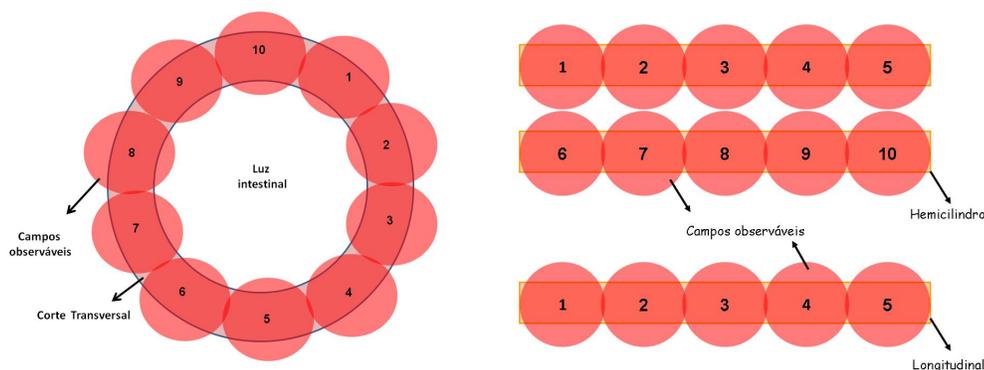


Figura 5 - Imagem ilustrativa da contagem dos campos observáveis nas diferentes formas de clivagem das amostras.

### 3.1.1.6 Contagem de vilos

Inicialmente foram contados todos os vilos que cada forma de clivagem e porção do intestino apresentava (vilos totais), posteriormente foram listados apenas os vilos que se apresentavam viáveis para medição, dentro dos critérios estabelecidos neste trabalho.

Como vilos totais entenda-se todos os vilos presentes nos cortes histológicos, independente das condições em que se encontravam. Nesta categoria foram incluídos vilos íntegros, lesados, sem uma base clara, não apresentando ápice e inúmeros outros artefatos (objetiva de 10x). Para caracterizarmos um vilos como sendo um vilos viável para medição, o mesmo deveria apresentar as seguintes características: deveriam

apresentar uma base com inserção clara na submucosa intestinal (objetiva de 10x) (figura 6), não apresentar rompimentos, interrupções ou dobraduras no seu corpo (objetiva de 4x) (figura 7), possuir um ápice com um epitélio colunar simples (objetiva de 40x) (figura 8).

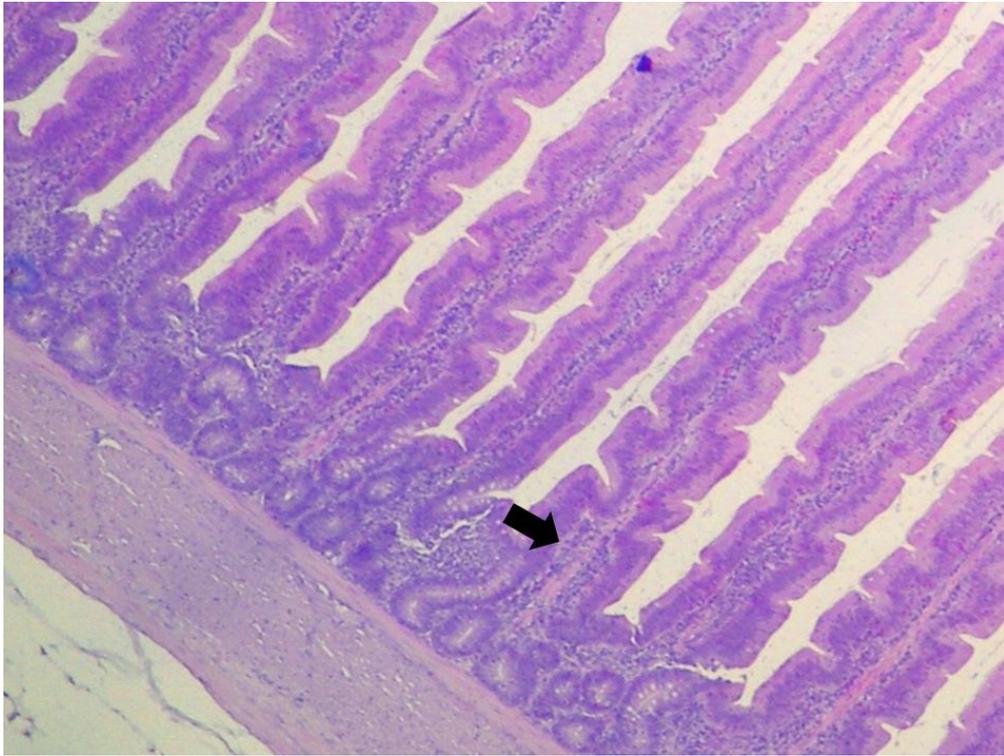


Figura 6 – Inserção de um vilão considerado viável para medição (seta).

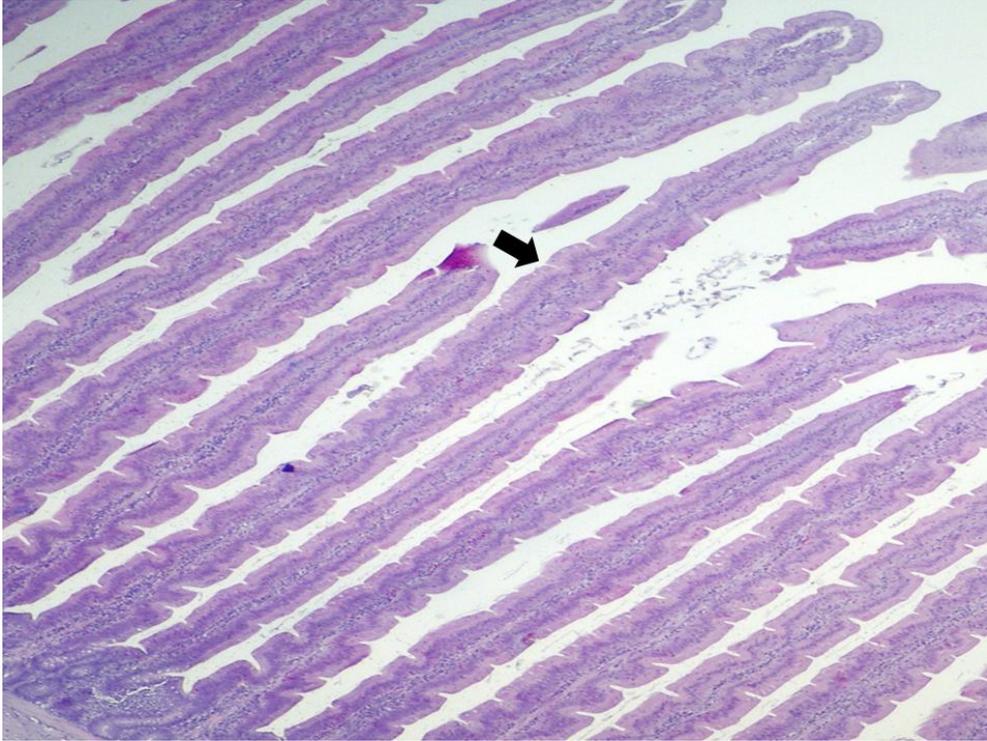


Figura 7 – Corpo de um vilão considerado viável para medição (seta).



Figura 8 – Ápice de um vilão apto para medição, apresentando epitélio simples (seta).

### **3.1.2 Experimento 2: Avaliação morfométrica de amostras de intestino de frangos de corte aos 42 dias de idade.**

#### **3.1.2.1 Aves**

Foram utilizadas 40 aves – frangos de corte linhagem *Cobb* – com 42 dias de idade. As aves foram criadas de forma convencional com água e ração *ad libitum*. As aves foram sacrificadas por eletrocussão e imediatamente após a constatação da morte dos animais, os mesmos foram necropsiados para as coletas dos fragmentos intestinais.

#### **3.1.2.2 Coleta das amostras**

Foram coletadas porções de aproximadamente 6cm de comprimento do jejuno de cada uma das aves. Imediatamente após secção do órgão, com o auxílio de uma seringa, foi realizada a lavagem do lúmen intestinal com solução de formalina a 10% tamponada para a retirada do conteúdo luminal. Todas as amostras foram identificadas e acondicionadas individualmente em frascos contendo solução de formalina a 10% tamponada.

#### **3.1.2.3 Clivagem das amostras**

As amostras foram clivadas com aproximadamente 15mm de comprimento e foram longitudinalmente divididas em duas metades, a partir da linha de inserção do mesentério (hemicilindro).

#### **3.1.2.4 Processamento histológico**

As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, clarificadas em xileno, impregnadas e incluídas em parafina. Os materiais sofreram microtomia para obtenção de cortes semi-seriados de 4µm de espessura e posteriormente corados com hematoxilina e eosina conforme Luna (1968).

#### **3.1.2.5 Obtenção das fotomicrografias digitais**

Foram obtidas imagens de todos os vilos considerados viáveis para mensuração, sendo considerados aptos aqueles que tivessem base nitidamente inserida (Figura 2), corpo sem artefatos (Figura 7) e ápice contendo epitélio colunar simples (Figura 4) . As imagens foram obtidas em uma resolução de 1024x768 utilizando-se uma câmera digital Olympus® C7070 e um microscópio trinocular Olympus® CX40.

### **3.1.2.6 Avaliação das estruturas selecionadas para medição**

Após a seleção dos vilos aptos para medição e da obtenção das imagens destes vilos, estes tiveram inúmeras estruturas mensuradas com o auxílio do *software* Motic 2.0<sup>®</sup>.

#### **3.1.2.6.1 Contagem de células caliciformes**

Após a seleção dos vilos viáveis para medição, foram contadas – nestes vilos – as células caliciformes presentes. A contagem foi realizada em toda a extensão do vilo, de ambos os lados partindo desde a base até a o ápice e seguindo pelo lado oposto.

#### **3.1.2.6.2 Altura dos vilos**

Os vilos tiveram suas alturas obtidas mensurando-os desde o ápice até sua base, sendo o limite a área adjacente a zona de criptas (Figura 9).

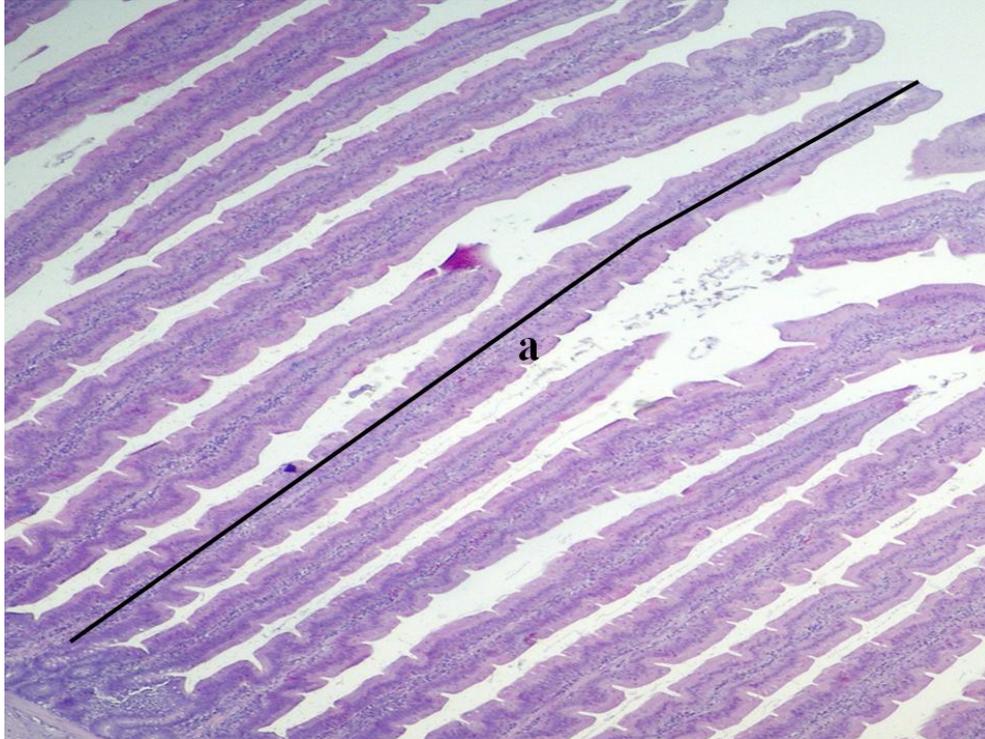


Figura 9 – Medição da altura de um vilão considerado viável para medição (a).

### 3.1.2.6.3 Largura dos vilos

Os vilos tiveram suas larguras determinadas medindo-os desde o topo de um enterócito – incluindo os microvilos – até o topo dos enterócitos do lado oposto. Esta medição foi realizada no terço médio da altura dos vilos (Figura10).

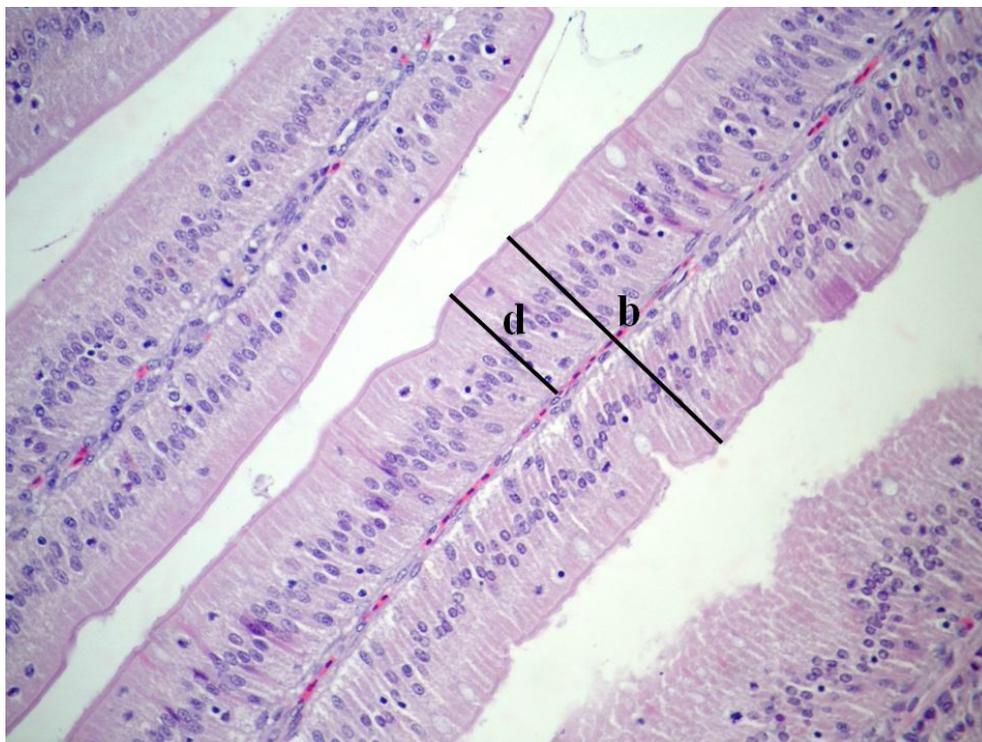


Figura 10 – Medição da largura de um vilão considerado viável para medição (b) e da altura dos enterócitos (d).

#### 3.1.2.6.4 Diâmetro de criptas

O diâmetro de cripta foi obtido medindo-se a cripta que se encontrava mais próxima do vilão medido. Conforme demonstrado na Figura 11.

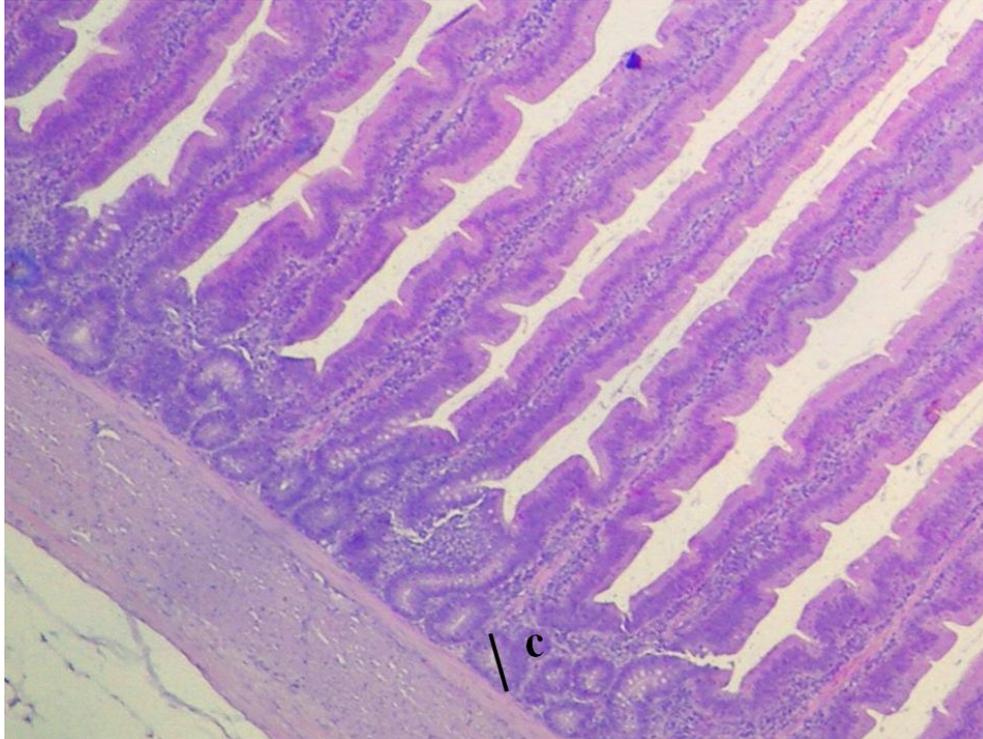


Figura 11 – Medição do diâmetro de uma cripta (c).

#### **3.1.2.6.5 Altura do enterócito**

Foi medida desde a base do enterócito até o extremo de seus microvilos. Esta medida foi realizada no terço médio da altura do vilo (Figura 10).

#### **3.1.2.6.6 Comprimento do núcleo do enterócito**

Foi medida ao longo do núcleo dos enterócitos, sendo realizada no terço médio da altura do vilo (Figura 12).

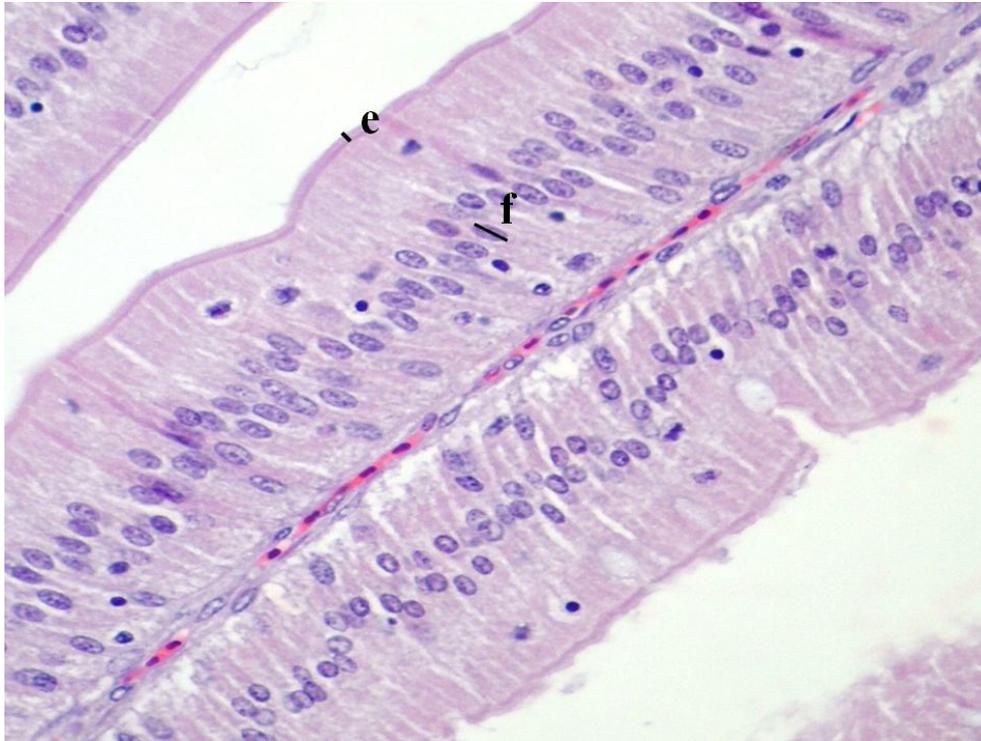


Figura 12 – Medição da altura dos microvilos (e) e da comprimento do núcleo de um enterócito (f).

#### 3.1.2.6.7 Altura dos microvilos

Foi medida a altura dos microvilos dos enterócitos localizados no terço médio da altura do vilos (Figura 12).

#### 3.1.2.6.8 Espessura de parede

Foi medida a partir do ápice do vilos até a superfície serosa do órgão (Figura 13).

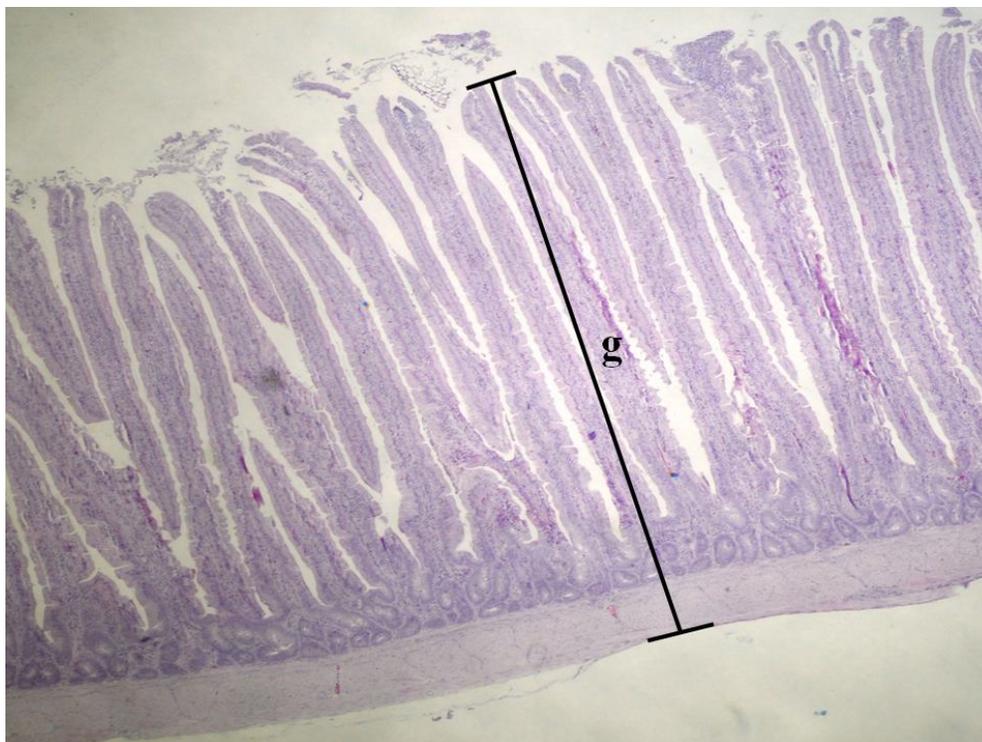


Figura 13 – Medição da espessura da parede do jejuno (g).

### 3.1.2.6.9 Cálculo dos índices para as diferentes medições das estruturas intestinais

Para a realização dos cálculos foram utilizadas apenas as variáveis que não apresentaram diferenças significativas. As demais variáveis aferidas encontram-se citadas nos Apêndices A à H.

Foram gerados os índices citados abaixo:

- Largura cripta/altura vilo,
- Altura vilo/largura do vilo,
- Altura enterócito/largura vilo,
- Altura microvilo/altura enterócito.

### 3.1.3 Experimento 3: Influência do tempo de coleta para a avaliação morfométrica intestinal.

#### 3.1.3.1 Aves

Foram utilizadas 20 aves – frangos de corte linhagem *Cobb* – com 42 dias de idade. As aves foram criadas em aviários convencionais com água e ração *ad libitum*.

As aves foram sacrificadas por eletrocussão e necropsiadas para as coletas dos fragmentos intestinais.

### 3.1.3.2 Estabelecimento dos tempos de coleta

As aves foram divididas em cinco grupos com quatro aves por grupo. Cada grupo teve suas amostras de intestino coletadas em distintos tempos após o sacrifício das aves, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Grupos experimentais e os tempos de coleta após a morte dos animais

Grupo	Tempo de coleta após a morte (min)
T1	Imediatamente
T2	10
T3	20
T4	30
T5	60

Todos os grupos foram coletados imediatamente ao término tempo respectivo, sendo este rigorosamente cumprido.

### 3.1.3.3 Coleta das amostras

Foram coletados aproximadamente 6cm do duodeno de cada uma das aves dos distintos tempos. Neste experimento foram coletadas amostras de duodeno pelo fato de ainda não se ter os resultados do Experimento 1. Contudo, existia a hipótese de que a coleta do intestino fechado era melhor opção de coleta para a análise morfométrica.

Imediatamente após a coleta, utilizou-se uma seringa e solução de formalina a 10% tamponada para realizar a lavagem do lúmen das amostras, com o objetivo de remover o conteúdo luminal. As amostras foram acondicionadas individualmente em frascos contendo solução de formalina a 10% tamponada.

### **3.1.3.4 Processamento histológico**

As amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, clarificados em xileno, impregnados e incluídos em parafina. Os materiais sofreram microtomia para obtenção de cortes semi-seriados de 4µm de espessura e posteriormente corados com hematoxilina e eosina conforme Luna (1968).

### **3.1.3.5 Obtenção das fotomicrografias digitais**

Foram obtidas imagens de todos os vilos considerados viáveis para mensuração, sendo considerados aptos àqueles que tivessem base nitidamente inserida (Figura 2), corpo sem artefatos (Figura 3) e ápice contendo epitélio colunar simples (Figura 4). As imagens foram obtidas em uma resolução de 1024x768 utilizando-se uma câmera digital Olympus® C7070 e um microscópio trinocular Olympus® CX40.

### **3.1.3.6 Avaliação das estruturas intestinais**

Foram medidas nas amostras as estruturas anteriormente citadas no Experimento 2, conforme segue: altura de vilo, largura de vilo, espessura de parede, diâmetro de cripta, altura do núcleo do enterócito, altura do enterócito e altura dos microvilos.

### **3.1.4 Experimento 4: Aplicação da fórmula, segundo Kisielinski *et al* (2002), para o cálculo da área de superfície absorptiva intestinal**

A partir dos valores dos itens mensurados no Experimento 2, se decidiu aplicar a fórmula para o cálculo da superfície de absorção apenas com caráter ilustrativo, pois assim poderíamos observar o comportamento das variáveis para o cálculo da superfície absorptiva. Para tanto, se utilizou a formula sugerida por Kisielinski *et al* (2002), conforme segue:

$$M = \frac{(largura\ vilo\ x\ altura\ vilo) + \left(\frac{largura\ vilo}{2} + \frac{largura\ cripta}{2}\right)^2 \times \left(\frac{largura\ vilo}{2}\right)^2}{\left(\frac{largura\ vilo}{2} + \frac{largura\ cripta}{2}\right)^2}$$

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Resultados do Experimento 1

Os resultados do Experimento 1 sobre a melhor forma de coleta e clivagem das amostras de intestino estão descritos nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3 – Valores médios das contagens do número de campos de observação das amostras de intestino de frangos de corte com 13 dias de idade.

Porção e clivagem	Nº de campos de observação
JPFH	9,76 <sup>a</sup>
DAFH	9,33 <sup>ab</sup>
IPFH	9,21 <sup>ab</sup>
DAFT	6,71 <sup>abc</sup>
DAFL	6,28 <sup>abc</sup>
JPFT	6,20 <sup>abc</sup>
IDAG	6,15 <sup>abc</sup>
IPFT	6,00 <sup>abc</sup>
JPFL	6,00 <sup>bc</sup>
JDAG	5,69 <sup>bc</sup>
DDAG	5,30 <sup>c</sup>
IPFL	3,66 <sup>c</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.

p≤0,05

DAFL	Duodeno ascendente fechado longitudinal
DAFH	Duodeno ascendente fechado hemcilindro
DAFT	Duodeno ascendente fechado transversal
DDAG	Duodeno descendente aberto grampeado
JDAG	Jejuno distal aberto grampeado
JPFL	Jejuno proximal fechado longitudinal
JPFH	Jejuno proximal fechado hemcilindro
JPFT	Jejuno proximal fechado transversal
IDAG	Íleo distal aberto grampeado
IPFL	Íleo proximal fechado longitudinal
IPFH	Íleo proximal fechado hemcilindro
IPFT	Jejuno proximal fechado transversal

Com os resultados apresentados na tabela 3, podemos observar que independentemente da porção intestinal coletada (duodeno, jejuno ou íleo) a forma de coleta “fechada” e a clivagem “hemcilindro” são as que oferecem um maior número de campos observáveis por amostra.

Tabela 4 – Valores médios do número de vilos viáveis para a medição de amostras de intestinos de frangos de corte com 13 dias de idade.

Porção e clivagem	Nº de vilos viáveis para a medição
IPFH	20,57 <sup>a</sup>
JPFL	18,23 <sup>ab</sup>
JPFH	15,61 <sup>abc</sup>
JPFT	5,90 <sup>abc</sup>
DAFH	5,75 <sup>abc</sup>
DDAG	5,69 <sup>abc</sup>
IPFT	2,90 <sup>bc</sup>
JDAG	2,30 <sup>c</sup>
IPFL	1,88 <sup>c</sup>
DAFL	1,85 <sup>c</sup>
IDAG	1,30 <sup>c</sup>
DAFT	0,64 <sup>c</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.

$p \leq 0,05$

DAFL	Duodeno ascendente fechado longitudinal
DAFH	Duodeno ascendente fechado hemicilindro
DAFT	Duodeno ascendente fechado transversal
DDAG	Duodeno descendente aberto grampeado
JDAG	Jejuno distal aberto grampeado
JPFL	Jejuno proximal fechado longitudinal
JPFH	Jejuno proximal fechado hemicilindro
JPFT	Jejuno proximal fechado transversal
IDAG	Íleo distal aberto grampeado
IPFL	Íleo proximal fechado longitudinal
IPFH	Íleo proximal fechado hemicilindro
IPFT	Jejuno proximal fechado transversal

A tabela 4 mostra que as amostras de jejuno estão entre as três maiores médias de contagens de vilos viáveis para medição, sendo que a forma de clivagem “hemicilindro” também está presente em duas das três maiores médias de vilos viáveis para medição.

#### 4.2 Resultados do Experimento 2

Os resultados do Experimento 2, sobre a avaliação morfométrica dos intestinos estão descritos nas tabelas 5 à 7.

Tabela 5 - Relação da largura de cripta pela altura do vilo

Amostra de jejuno	Largura de cripta/altura de vilo
33	0.05000645 <sup>a</sup>
37	0.04858444 <sup>a</sup>
35	0.04715408 <sup>a</sup>
19	0.04574743 <sup>a</sup>
29	0.04553245 <sup>a</sup>
2	0.04398353 <sup>a</sup>
24	0.04104578 <sup>a</sup>
26	0.04061215 <sup>a</sup>
13	0.04052720 <sup>a</sup>
1	0.04038677 <sup>a</sup>
27	0.04025264 <sup>a</sup>
34	0.03992370 <sup>a</sup>
39	0.03883882 <sup>a</sup>
9	0.03845724 <sup>a</sup>
36	0.03743221 <sup>a</sup>
20	0.03702819 <sup>a</sup>
6	0.03581892 <sup>a</sup>
11	0.03567307 <sup>a</sup>
4	0.03541285 <sup>a</sup>
25	0.03424838 <sup>a</sup>
15	0.03408313 <sup>a</sup>
3	0.03394917 <sup>a</sup>
5	0.03307898 <sup>a</sup>
8	0.03299232 <sup>a</sup>
30	0.03281913 <sup>a</sup>
12	0.03276358 <sup>a</sup>
38	0.03241531 <sup>a</sup>
10	0.03231256 <sup>a</sup>
21	0.03197800 <sup>a</sup>
31	0.03089754 <sup>a</sup>
40	0.03000175 <sup>a</sup>
23	0.02995321 <sup>a</sup>
18	0.02896312 <sup>a</sup>
7	0.02678798 <sup>a</sup>
22	0.02669787 <sup>a</sup>
17	0.02652856 <sup>a</sup>
14	0.01848150 <sup>a</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.

$p \leq 0,05$

Na Tabela 5 não se observou diferença significativa entre os índices calculados entre a largura de cripta dividida pela altura do vilo.

Tabela 6 - Relação da altura do vilo pela largura do vilo

Amostra de jejuno	Altura de vilo/largura de vilo
14	27.043365 <sup>a</sup>
18	25.403103 <sup>a</sup>
22	20.548115 <sup>a</sup>
27	20.293614 <sup>a</sup>
34	20.213768 <sup>a</sup>
7	19.953451 <sup>a</sup>
19	19.247013 <sup>a</sup>
30	19.229749 <sup>a</sup>
9	19.008208 <sup>a</sup>
33	18.780752 <sup>a</sup>
40	18.649186 <sup>a</sup>
29	18.162881 <sup>a</sup>
37	18.126003 <sup>a</sup>
25	17.749182 <sup>a</sup>
17	17.620122 <sup>a</sup>
21	17.512096 <sup>a</sup>
12	17.494617 <sup>a</sup>
39	17.475030 <sup>a</sup>
11	17.470182 <sup>a</sup>
23	17.382283 <sup>a</sup>
5	17.346842 <sup>a</sup>
38	16.943924 <sup>a</sup>
31	16.844865 <sup>a</sup>
4	16.813577 <sup>a</sup>
8	16.660119 <sup>a</sup>
24	16.635842 <sup>a</sup>
35	16.343589 <sup>a</sup>
20	16.128333 <sup>a</sup>
1	16.107908 <sup>a</sup>
26	15.958652 <sup>a</sup>
15	15.348002 <sup>a</sup>
10	15.314889 <sup>a</sup>
13	15.232663 <sup>a</sup>
3	14.994954 <sup>a</sup>
6	13.857601 <sup>a</sup>
2	13.668913 <sup>a</sup>
36	13.060213 <sup>a</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.  
 $p \leq 0,05$

Conforme a Tabela 6, o cálculo dos índices para altura do vilo dividida pela largura do vilo não demonstrou diferenças significativas.

Tabela 7 – Relação da altura do enterócito pela largura do vilão

Amostra de jejuno	Altura de enterócito/largura de vilão
2	0,91906899 <sup>a</sup>
12	0,54524481 <sup>ab</sup>
29	0,53249078 <sup>ab</sup>
31	0,52232796 <sup>ab</sup>
40	0,52041762 <sup>ab</sup>
9	0,51390923 <sup>ab</sup>
33	0,50986782 <sup>ab</sup>
35	0,50262131 <sup>ab</sup>
34	0,50225428 <sup>ab</sup>
11	0,49307920 <sup>ab</sup>
38	0,49112697 <sup>ab</sup>
15	0,48753188 <sup>ab</sup>
36	0,48634292 <sup>ab</sup>
17	0,48502788 <sup>ab</sup>
30	0,48334745 <sup>ab</sup>
5	0,47236842 <sup>ab</sup>
39	0,47111718 <sup>ab</sup>
37	0,46792045 <sup>ab</sup>
27	0,45898863 <sup>b</sup>
22	0,45755592 <sup>b</sup>
24	0,45620968 <sup>ab</sup>
14	0,45436144 <sup>ab</sup>
23	0,45325036 <sup>ab</sup>
26	0,45024905 <sup>ab</sup>
20	0,44911633 <sup>ab</sup>
7	0,44822593 <sup>b</sup>
3	0,44785969 <sup>ab</sup>
18	0,44714751 <sup>ab</sup>
25	0,44569057 <sup>ab</sup>
13	0,44487833 <sup>ab</sup>
19	0,44249672 <sup>b</sup>
6	0,43107193 <sup>ab</sup>
10	0,43106596 <sup>b</sup>
1	0,42823037 <sup>b</sup>
21	0,42735475 <sup>b</sup>
4	0,41703591 <sup>ab</sup>
8	0,40657088 <sup>ab</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.  
 $p \leq 0,05$

Não se obteve diferença significativa para a maioria das amostras quando a altura do enterócito foi dividida pela largura do vilão.

Tabela 8 – Demonstra a relação altura de microvilo dividida pela altura do enterócito.

Amostra de jejuno	Altura do microvilo/altura do enterócito
10	0.08561901 <sup>a</sup>
27	0.06249138 <sup>ab</sup>
26	0.06234545 <sup>ab</sup>
18	0.06125094 <sup>ab</sup>
13	0.06121466 <sup>ab</sup>
23	0.05979442 <sup>ab</sup>
19	0.05973742 <sup>ab</sup>
22	0.05929525 <sup>ab</sup>
24	0.05737466 <sup>ab</sup>
7	0.05491879 <sup>ab</sup>
1	0.05442590 <sup>ab</sup>
4	0.05440592 <sup>ab</sup>
21	0.05375821 <sup>ab</sup>
14	0.05364919 <sup>ab</sup>
9	0.05213372 <sup>ab</sup>
20	0.05182507 <sup>ab</sup>
5	0.05013928 <sup>ab</sup>
37	0.04982996 <sup>ab</sup>
30	0.04905109 <sup>ab</sup>
33	0.04891406 <sup>ab</sup>
8	0.04716534 <sup>ab</sup>
35	0.04606832 <sup>ab</sup>
39	0.04534824 <sup>ab</sup>
11	0.04480662 <sup>ab</sup>
6	0.04338617 <sup>ab</sup>
17	0.04335742 <sup>b</sup>
40	0.04302414 <sup>ab</sup>
25	0.04290819 <sup>ab</sup>
15	0.04284715 <sup>ab</sup>
34	0.04276395 <sup>ab</sup>
3	0.04218997 <sup>ab</sup>
12	0.04160790 <sup>ab</sup>
31	0.03989392 <sup>ab</sup>
29	0.03923988 <sup>ab</sup>
36	0.03840832 <sup>ab</sup>
38	0.03783716 <sup>ab</sup>
2	0.03709843 <sup>ab</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna caracterizam diferença significativa.  
 $p \leq 0,05$

Não se obteve diferença significativa para a maioria das amostras quando a altura do microvilo foi dividida pela altura do enterócito.

### **4.3 Resultados do Experimento 3**

Os resultados da morfometria intestinal do Experimento 3 ficaram comprometidos devido os rígidos critérios de seleção dos vilos para classificá-los aptos para medição. Isso pelo fato de que, a partir do Tempo 2 (10min após a morte), foi detectada autólise em estado inicial, caracterizada pela descamação do epitélio apical das vilosidades. Estas alterações inviabilizaram a mensuração da altura dos vilos, com exceção do T1 onde foi possível a medição das microestruturas, os demais tempos foram descartados.

### **4.4 Resultados do Experimento 4**

Devido ao fato da aplicação da formula sugerida por Kisielinski *et al* (2002) ter um caráter ilustrativo, os resultados estão descritos no Apêndice I.

## 5 DISCUSSÃO

A execução do trabalho teve como agente catalisador a falta de convergência entre diversos autores sobre os métodos e os critérios de obtenção das amostras e das estruturas mensuráveis nestas. Como exemplos podemos citar Alvarenga *et al* (2004), que coletaram anéis de 5cm de cada um dos segmentos do intestino delgado; por sua vez, Okamoto *et al* (2009) coletaram amostras de duodeno proximal com 1cm de comprimento, que foram abertas pela margem mesentérica, estendidas pela serosa e fixadas em solução de Bouin por 18 horas antes de serem transferidas para uma solução de álcool a 70%. Shiriashi *et al* (2009) também usaram uma metodologia distinta das anteriores citadas, os pesquisadores coletaram amostras de íleo na forma de anéis e os lavaram com solução de NaCl 0,9%, posteriormente fixaram os órgãos em solução de Bouin. Outra metodologia distinta foi utilizada por Fukauama *et al* (2005), que coletaram amostras de intestino com 1,5cm de comprimento, lavaram imediatamente as amostras com água destilada, fixaram em solução de Bouin por 24h e depois transferidas para um meio de álcool 70%. Caruso e Demonte (2005) estudando ratos, coletaram 1cm de intestino delgados dos animais, fixaram em formol 10%, refrigeraram as amostras por 24h e posteriormente acondicionaram em meio álcool 70%. Nesta pequena revisão podemos observar a diversidade metodológica que envolve os trabalhos com intestino, sendo que a única concordância na maioria dos casos é a falta de detalhamento da forma de obtenção das amostras e do método aplicado.

A mesma dificuldade foi observada na obtenção de critérios para mensuração das microestruturas intestinais. Existe uma discordância metodológica imensa, assim como a falta de detalhamento dos critérios de eleição das medidas, que praticamente impossibilitam a reprodução da maioria dos experimentos consultados.

Inicialmente, se decidiu por estabelecer a melhor forma de coleta e clivagem das amostras, sendo assim, foram avaliadas quatro formas de clivagens para as diferentes porções intestinais. O objetivo foi buscar as combinações (porção-clivagem) mais indicadas para a avaliação morfométrica. Como resultado observou-se que as amostras de intestino coletadas fechadas e clivadas longitudinalmente – denominadas de hemicilindro – foram as que se mostraram mais eficientes para obtenção das medidas intestinais. O resultado concorda com KALIL (2000), que diz que os cortes de intestino delgado devem ser sempre no sentido longitudinal, para obter preparações histológicas sem vilosidades falsamente alargadas. O pesquisador também salienta que quando o

objetivo é a obtenção de medidas, de valores numéricos e de proporções referentes ao intestino, é necessário ter cuidado, pois o intestino é uma estrutura muito elástica e sujeita à interferência como a manipulação, a temperatura, os fixadores e o processamento.

O intestino é um órgão muito sensível e requer muita cautela à manipulação. Neste estudo se optou por adotar critérios rigorosos para que um vilo fosse apto à medição. Ele não deveria apresentar artefatos em seu corpo (dobraduras, rupturas, estrias e outras), deveria ter uma base claramente inserida e um ápice apresentando epitélio colunar simples. Os artefatos no corpo do vilo podem “reduzir” seu tamanho – as dobraduras, por exemplo – ou aumentá-lo, como é o caso das estrias ou dos desprendimentos (rupturas). A base claramente inserida indica que o vilo realmente pertence àquele plano de corte, assim como o ápice apresentando epitélio simples, que sugere que o vilo foi seccionado o mais próximo possível de sua linha sagital. Todas estas características fazem com que as medições sejam feitas com uma margem de segurança maior, evitando possíveis distorções à medição.

Após a obtenção das medidas, verificou-se parte delas – altura de vilo, espessura de parede, contagem de células caliciformes e altura do núcleo – apresentaram diferenças significativas entre as aves e uma grande amplitude de valores e foram descartadas. As demais variáveis morfométricas mensuradas - altura de microvilosidades, altura de enterócito, largura de vilo e largura de cripta – não evidenciaram importante diferença significativa entre os intestinos estudados e foram selecionadas para a obtenção das características morfométricas dos jejunos estudados. Para tornar as variáveis ainda mais homogêneas, foi estabelecida uma relação entre as mesmas (largura cripta/altura vilo; altura vilo/largura vilo; altura enterócito/largura vilo e altura microvilo/ altura enterócito) com o intuito de reduzir a variabilidade apresentada pelos números absolutos. Após a realização destes cálculos relativos chegou-se à valores que, não diferenciaram significativamente entre si (largura de cripta dividida pela altura do vilo e altura do vilo dividida pela largura do vilo) ou havia diferença significativa em pequeno número das amostras (altura do enterócito dividido pela largura do vilo e altura de microvilo dividida pela altura do enterócito) e estas variáveis foram escolhidas como parâmetros a serem medidos.

Houve a necessidade de estabelecer relação entre as variáveis porque se observou grande diferença nas medições absolutas obtidas em animais normais e

saudáveis. Esse foi um alerta para os cuidados que se deve tomar quanto à seleção de variáveis utilizadas na histomorfometria intestinal em razão do presente estudo ter utilizado apenas aves sem alterações histopatológicas no intestino. Sendo assim, em trabalhos futuros, quando se utilizarem intestinos com lesões de qualquer etiologia – seja infecciosa, parasitária ou tóxica – onde haja alteração estrutural do órgão, deverão ser usadas as variáveis escolhidas neste experimento na avaliação da morfometria intestinal.

Outro resultado importante obtido neste estudo é referente ao tempo de coleta das amostras de intestino. Devido aos critérios rígidos de seleção dos vilos aptos à medição, todas as amostras de intestino coletadas com 10 minutos pós-morte ou mais, apresentaram algum nível de autólise capaz de inviabilizá-la para a realização da histomorfometria. A partir dos 10 minutos após a morte do animal já foram observadas alterações no ápice das vilosidades, não permitindo que as mesmas fizessem parte das aptas a serem medidas. Visto que na maioria das vezes o intestino é o último órgão a ser analisado em uma necropsia, existe uma grande probabilidade de que as amostras não se prestem à avaliação histomorfométrica na maioria dos casos das coletas de intestinos no campo. Assim, quando pelo menos um dos objetivos da coleta de vísceras for a histomorfometria intestinal, deve-se realizar a coleta do órgão imediatamente após a morte do animal.

O cálculo da área da superfície absorptiva intestinal utilizando a fórmula proposta por Kisielinski *et al* (2002) foi realizado com caráter meramente ilustrativo, pois não foram utilizados distintos tratamentos no presente estudo, o que impossibilita a avaliação dos resultados de forma mais satisfatória. Contudo, estabeleceu-se um intervalo de valores normais para a capacidade absorptiva intestinal para frangos de corte aos 42 dias de idade.

O presente trabalho servirá de alicerce para os futuros projetos que envolverem a avaliação morfométrica intestinal, pois elucidou inúmeras questões quanto à forma de coleta das amostras, ao tempo máximo de coleta, à forma de clivagem, a escolha das variáveis a serem medidas e outras tantas questões práticas que se apresentaram durante a execução do mesmo. Entretanto, outras questões surgiram, tais como: existe diferença entre a histomorfometria intestinal em aves de diferentes idades? Aves com diferentes aptidões – corte ou postura – apresentam distintas características histomorfométricas? O fato é que se deve ter cuidado ao analisar-se a morfometria intestinal em experimentos

futuros, pois existe a necessidade incondicional da presença de um grupo controle para balizar as mensurações, pois cada experimento deve gerar os seus dados de normalidade, evitando-se extrapolações.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nos quatro experimentos realizados neste estudo, podemos concluir:

- As amostras de intestino coletadas fechadas e clivadas em hemicilindro foram as que se mostraram mais adequadas para obtenção das medidas intestinais;
- O intestino é um órgão muito sensível e requer cautela à manipulação, sendo que neste estudo adotaram-se critérios rigorosos para que um vilão fosse apto à medição. Ele não deveria apresentar artefatos em seu corpo (dobraduras, rupturas, estrias e outras), deveria ter uma base claramente inserida e um ápice apresentando epitélio colunar simples;
- As medidas de altura de vilão, de espessura de parede, de contagem de células calciformes e de comprimento do núcleo não foram confiáveis para a avaliação morfométrica, pois apresentaram diferenças significativas entre as aves e uma grande amplitude de valores;
- Foi estabelecido que a altura das microvilosidades, altura do enterócito, largura de vilão e largura de cripta são as medidas mais confiáveis para a avaliação morfométrica de intestinos de frangos de corte;
- A realização de cálculos relativos como a largura de cripta/altura do vilão, altura do vilão/largura do vilão, altura do enterócito/largura do vilão e altura de microvilão/altura do enterócito apresentaram valores com pouca ou nenhuma diferença significativa, sendo uma possibilidade para a obtenção dos valores para avaliação morfométrica intestinal;
- Todas as amostras de intestino coletadas com tempo superior a 10 minutos pós-morte apresentaram algum nível de autólise capaz de inviabilizá-las para a realização das histomorfometrias, seguindo os critérios rígidos de seleção dos vilões aptos à medição;

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, B.O.; BELLETTI, M.E.; FERNANDES, E.A; SILVA, M.M.; CAMPOS, L.F.B.; RAMOS, S.P. Efeitos de fontes alternativas de fósforo nas rações de engorda e abate sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 20, n.3, p. 55-59, Dez. 2004.
- APPLEGATE, T.J.; DIBNER, J.J.; KITCHELL, M.L.; UNI.; LILBURN, M.S. Effect of turkey ( *Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poultry development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. **Journal Comparative Biochemistry Physiology B**, Vancouver, v.124, n.4, p.381- 389, dec. 1999.
- ASSIS, R.C.L.; LUNS, F.D.; BELETTI, M.E.; ASSIS, R.L.; NASSER, N.M.; FARIA, E.S.M.; CURY, M.C. Histomorphometry and macroscopic intestinal lesions in broilers infected with *Eimeria acervulina*. **Veterinary Parasitology**, Umuarama, v. 168, p. 185-189.
- BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI, M.. Estrutura Funcional do Trato Digestório. In: Marcos Macari; Renato Luís Furlan; Elisabeth Gonzales.. (Org.). Fisiologia Aviária - Aplicada a Frangos de Corte. Fisiologia Aviária - Aplicada a Frangos de Corte. 2ed .Jaboticabal: Funep, 2008, v. , p. 75-98.
- CARUSO, M.; DEMONTE, A.Histomorfometria do intestino delgado de ratos submetidos a diferentes fontes protéicas. **Alim. Nutri.**, Araraquara, v16, n. 2, p. 131-133, abr./jun. 2005.
- DIBNER, J.J.; RICHARDS, J.D. The digestive system: Challenges and opportunities. **Poultry Science Association, Inc.**, Missouri, v.13, p. 86 – 93, 2004.
- DUKE, G.E. Digestão aviária. In: TRAMPEL, D.M; DUKE, G.E. **Fisiologia dos animais domésticos**, 10. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, cap. 23, p.450-461
- FARNER, D.S. Digestion and the digestive system. **Biology and comparative physiology of birds**. New York: Academic Press, 1960. p.411- 467.
- FASINA, Y. O.; HOERR, F. J.; MCKEE, S. R.; CONNER, D. E. Influence of *Salmonella enteric* Serovar Typhmuriium Infection on Intestinal Goblet cells and Villus Morphology in Broiler Chicks. **American Association of Avian Pathologists**, v. 54, n. 2, p. 841- 847, 2010.
- FOGAÇA, H.S. Desnutrição. In: SOUZA, H.S.P.; ELIA, C.C.S. **Imunologia da mucosa intestinal**. São Paulo: Atheneu, 2000, cap. 7.8, p.159-163.
- FUKAYAMA, E.H.; BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A.; KATO, R.K.; MURGAS, L.D.S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frango de corte. **Bras. Zootec.**, Lavras, v.34, n. 6, p. 2316 - 2326, 2005.

GYERA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chicken. **Poultry Science Association, Inc.**, Jerusalem, v. 80, p. 776-782, jan.2001.

GYERA, A.; UNI, Z.; BEN-HUR, H.; ISSHIKI, Y. Small intestine development in the young chick: crypta formation and enterocyte proliferation and migration. **British Poultry Science**, v. 41, p. 544 -551, 2000.

GORDON, J.I.; Intestinal Epithelial differentiaton: News insights from chimeric and transgenic mice. **Journal of Cell Biol**, v. 108, p.187-1382, 1989.

HAMILTON, S.M; ALLEN, D.C. Morphometry in histopathology. **Jornual of Pathology**, N. Ireland, v.175, p. 369-79, 1995.

HODGES, D. H.; MICHAEL, E. Structure and Histochemistry of the Normal Intestine of the Fowl - III. The Fine Structure of the Duodenal Crypt. **University of London**, v.160, p. 125-138, 1975.

HODGES, R.D. The digestive system: The digestive tract. **The histology of the fowl**, London: Academic press, 1974, p. 35-36.

ITO, N.M.K; MIYAJI, C.I; MIYAJI, S.O; LIMA, E.A. Fisiolopatologia do sistema digestório e anexos. In: JUNIOR, B.A.; SILVA, E.N.; FABIO, J.D.; SESTI,L.; ZUANAZE, M.A.F. **Doença das aves**, 2.ed. Campinas: Facta, 2009, cap.3.4, p. 215 – 256.

JERRY, L.S.Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. **Poultry Science**, Ames,IA, v.5, p. 96 -101, jan, 1996

JUNIOR, W.J.B.; BACHA, L.M. Sistema digestivo. In:\_\_\_\_\_ **Atlas colorido de histologia veterinária**, 2. ed. São Paulo: Roca, 2003, cap.13, p.121.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.O. Tubo digestivo. In:\_\_\_\_\_ **Histologia básica**, 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, cap.15, p. 244-269.

KAY, I. Gastrointestinal function.In:\_\_\_\_\_ **Introduction to animal physiology**, 1. ed. CIDADE: Bios Scientific, 1998, cap.8, p. 125-145

KALIL, M.; ZALTMAN, C.; TAKIYA. Arquitetura da mucosa intestinal. In: SOUZA, H.S.P.; ELIA, C.C.S. **Imunologia da mucosa intestinal**. São Paulo: Atheneu, 2000, cap. 2, p. 11-39.

KISIELINSKI, K., WILLIS, S., PRESCHER, A., KLOTERHALFEN, B., SCHUMPELICK, V. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. Med.** Aachen, Germany, v. 2, p. 131 – 135, aug. 2002.

LUNA, G.L. **Manual of Histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**.Third Edition. London: Mc Graw-Hill Book Company,1968.

MAIORKA, A. Qualidade intestinal em frangos. Disponível em: <<http://www.mercolab.com.br/artigos/AlexMaiorka-QualidadeIntestinal.pdf>>. Acesso em 15 jul. 2010.

MCLELLAND, J. Sistema digestivo das aves. In: GROSSMAN, J.D., SISSON, S.; GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5<sup>th</sup>. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1975, cap. 63, v.2, p. 1441-1456.

OKAMOTO, A.S; FILHO, R.L.A.; LIMA, E.T.; MOUJAIM, J.C. Histopatologia da mucosa intestinal de pintos tratados com *Lactobacillus spp* .E desafiadas com *Salmonella entérica*, Subespécie *entérica*, Sorotipo *Enteritidis*. *Ciência Animal Brasileira*, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 568-573, jun. 2009.

PALERMO, N.J. **Aspectos anatômicos e fisiológicos das aves: sistema digestório. Farmacologia Aplicada a Avicultura**. São Paulo: Funep; p.16-22, 2005.

PELICANO, E.R.L; SOUZA, P.A; SOUZA, H.B.A; FIGUEIREDO, D.F.; AMARAL, C.M.C. Morphometry and ultra-structure of the intestinal mucosa of broilers fed different additives. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Jaboticabal, v.9, n.3, p.173-185, sep.2009.

PIRES, A.L. G; SILVEIRA, T.R; SILVA, V.D. **Estudo morfológico e esterológico digital da mucosa do intestino delgado de crianças eutróficas e desnutridas com diarreia persistente**. 2003.117 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2002.

PIRLOT, P. **Morfologia evolutiva de los cordados**. 1. Ed. Barcelona: Omega, 1976. p. 481- 484.

POTTEN, C.S.; LOEFFER, M. Stem Cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons from the crypt. **Development**, v. 110, p.1001-1020, 1990

Relatório anual 2010/2011.<  
<http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiababef.php?notcodigo=2761>>. acesso 22 março 2012.

REZENDE, J.B; BELETTI, M.E. Análise histomorfométrica do desenvolvimento do intestino delgado de galinhas poedeiras. In: **XII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 2008, Uberlândia. Encontro Interno, Comissão Institucional de Iniciação de Pesquisa.

SCOVILLE, D. H., Sato, T. X. C.; LI, L. Current review: Intestinal stem cells and signaling. **Gastroenterol.** ,134:849 - 864, 2008.

SHIRAIISHI, C.S.; AZEVEDO, J.F.; SILVA, A.V.; SANTANA, D.M.G.; ARAUJO, E.J.A. Análise morfológica da parede intestinal e dinâmica de mucinas secretadas no íleo de frangos infectados por *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.7, p. 2146 – 2153, out. 2009.

THOMPSON, K.L.; APPLGATE, T.J. Feed withdrawal alters small- intestinal morphology and mucus of broilers. **Poultry Science**, Greenfield, v.85, p.1535-1540, jan, 2006.

TRAMONTE, R.; CARVALHO, R.O.M.; FARIAS, D.C.; SERAFIN, J.D.M.; ORTELLADO, D.K.; ACAMPORA, A.J. Alterações da mucosa intestinal em ratos: estudo morfométrico em três diferentes tratamentos após indução experimental de sepse abdominal aguda. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n.2, p. 120-125, jan. 2004.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Cell proliferation in chickens intestinal epithelium occurs both in the cript and along the villus. **Journal Comparative Physiology B**, Vancouver, v.168, n.4, p. 241- 247, may. 1998

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Metabolismo and nutrition: Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, Israel, v.77, p. 75-82, jul, 1997.

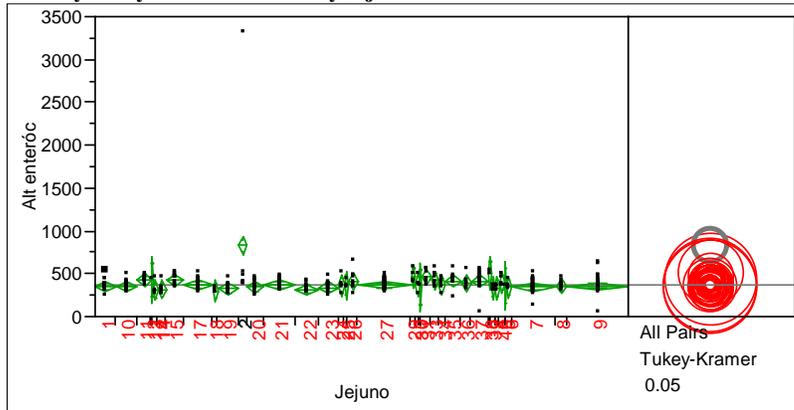
VIOLA, H.T. **Influência da restrição de água no desempenho de frango de corte**. Dissertação ( Mestrado em Zootecnia).- Universidade Dederal do Rio Grandedo Sul, Porto Alegre, R. Grande do Sul, 2003

WHITTOW, G; Gastrointestinal Anatomy and Phisiology . **Strukie's Avian physiology**, USA: Academic Press, 1999, p.299-321.

YAMAUCHI, K. Review on Chicken Intestinal Villus Histological Alterations Related with Intestinal Function. **Journal of Poultry Science**, Kagawa-ken, v. 39, p. 229 -242, jul. 2002.

**APÊNDICE A- Altura dos enterócitos**

**Oneway Analysis of Alt enteróc By Jejuno**



**Oneway Anova - Summary of Fit**

Rsquare	0.187254
Adj Rsquare	0.121356
Root Mean Square Error	141.9767
Mean of Response	372.5376
Observations (or Sum Wgts)	481

**Analysis of Variance**

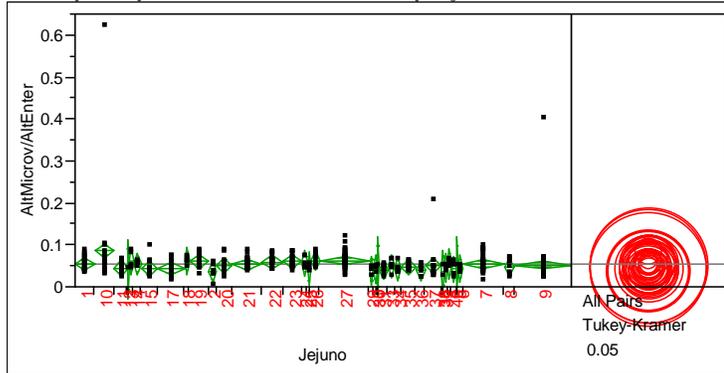
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	2062026	57278.5	2.8416	<.0001
Error	444	8949881	20157.4		
C. Total	480	11011907			

Level		Mean
2	A	828.07143
38	A B	504.90000
29	B	464.40000
31	B	460.90000
12	A B	425.40000
33	B	425.38571
15	B	424.52500
11	B	421.65385
35	B	417.53571
26	B	411.42222
37	B	410.78750
40	B	394.18000
36	B	384.80000
17	B	371.89615
34	B	370.71667
21	B	370.41724
3	B	369.77500
27	B	364.87708
25	B	364.06667
24	B	360.64000
5	A B	359.00000
9	B	356.28727
8	B	352.70000
1	B	352.37368
10	B	349.95789
6	B	347.40000
7	B	345.22750
20	B	343.86667
30	A B	342.50000
23	B	334.33889
4	B	331.82500
39	B	330.70000
19	B	325.03684
22	B	317.45714
14	B	315.94286
13	B	310.24000
18	B	295.26000

Levels not connected by same letter are significantly different.

**APÊNDICE B – Altura de microvilo**

**Oneway Analysis of AltMicrov/AltEnter By Jejuno**



**Oneway Anova -Summary of Fit**

Rsquare	0.074256
Adj Rsquare	-0.0008
Root Mean Square Error	0.035235
Mean of Response	0.053488
Observations (or Sum Wgts)	481

**Analysis of Variance**

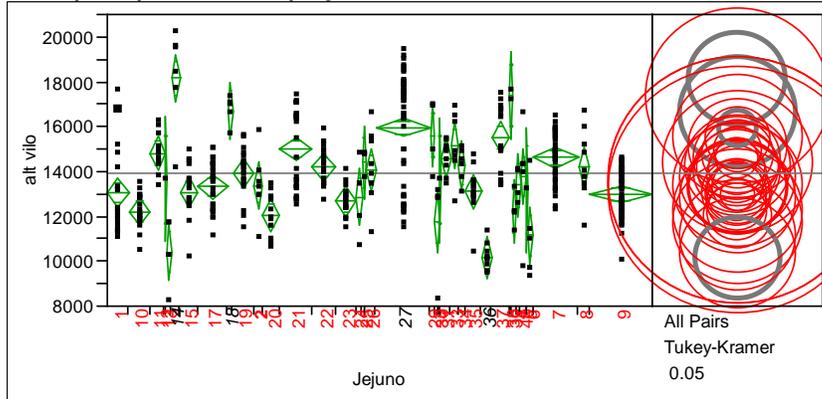
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	0.04421472	0.001228	0.9893	0.4897
Error	444	0.55122359	0.001241		
C. Total	480	0.59543831			

Level	Mean
10	A 0.08561901
27	A B 0.06249138
26	A B 0.06234545
18	A B 0.06125094
13	A B 0.06121466
23	A B 0.05979442
19	A B 0.05973742
22	A B 0.05929525
24	A B 0.05737466
7	A B 0.05491879
1	A B 0.05442590
4	A B 0.05440592
21	A B 0.05375821
14	A B 0.05364919
9	A B 0.05213372
20	A B 0.05182507
5	A B 0.05013928
37	A B 0.04982996
30	A B 0.04905109
33	A B 0.04891406
8	A B 0.04716534
35	A B 0.04606832
39	A B 0.04534824
11	A B 0.04480662
6	A B 0.04338617
17	B 0.04335742
40	A B 0.04302414
25	A B 0.04290819
15	A B 0.04284715
34	A B 0.04276395
3	A B 0.04218997
12	A B 0.04160790
31	A B 0.03989392
29	A B 0.03923988
36	A B 0.03840832
38	A B 0.03783716
2	A B 0.03709843

Levels not connected by same letter are significantly different.

### APÊNDICE C – Altura dos vilos

#### Oneway Analysis of alt vilos By Jejuno



#### Oneway Anova -Summary of Fit

Rsquare	0.533166
Adj Rsquare	0.495315
Root Mean Square Error	1416.476
Mean of Response	13910.46
Observations (or Sum Wgts)	481

#### Analysis of Variance

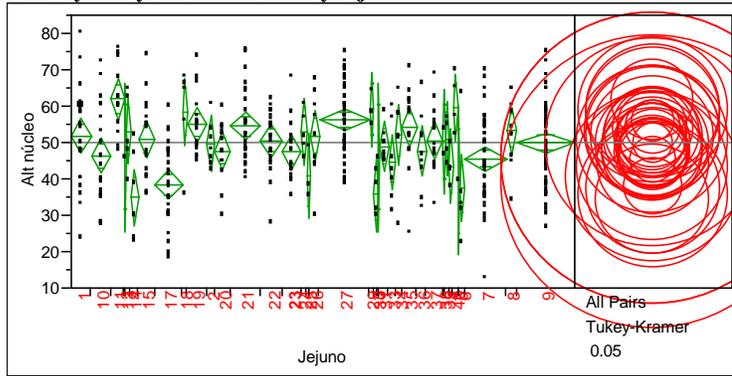
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	1017424277	28261785	14.0858	<.0001
Error	444	890844017	2006405.4		
C. Total	480	1908268293			

Level	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	Mean
14	A													18162.871
38	A	B	C	D										17388.800
18	A	B	C											16700.560
27	A	B												15963.471
29	A	B	C	D	E	F	G	H	I					15606.600
37		B	C	D										15532.744
33		B	C	D	E	F	G	H						15156.514
21		B	C	D	F									15004.090
11		B	C	D	E	F	G							14813.938
7		C	D	E	F									14609.023
31		B	C	D	E	F	G	H	I					14605.467
25	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L		14404.733
34		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K			14253.183
22		C	D	E	F	G	H	I						14195.662
8		B	C	D	E	F	G	H	I	J				14185.860
26		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K			14055.067
19			D	E	F	G	H	I	J					13917.363
40		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L		13775.200
12	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	13649.300
30	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	13626.200
4		B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	13383.750
2			D	E	F	G	H	I	J	K	L			13354.843
17				E	F	G	H	I	J	K				13328.427
5	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	13183.600
35				E	F	G	H	I	J	K	L			13112.157
15				E		G	H	I	J	K	L			13086.825
1						G	H	I	J	K	L			13065.642
9							H	I	J	K				12991.216
24				D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	12858.660
23								I	J	K	L			12662.444
39					E	F	G	H	I	J	K	L	M	12234.500
10									J	K	L	M		12219.474
20									J	K	L	M		12052.167
3				E		G	H	I	J	K	L	M		11774.750
6										K	L	M		11151.200
13											L	M		10412.360
36												M		10160.178

Levels not connected by same letter are significantly different.

## APÊNDICE D – Comprimento do núcleo dos enterócitos

### Oneway Analysis of Alt núcleo By Jejuno



### Oneway Anova - Summary of Fit

Rsquare	0.240386
Adj Rsquare	0.178796
Root Mean Square Error	10.37219
Mean of Response	50.02827
Observations (or Sum Wgts)	481

### Analysis of Variance

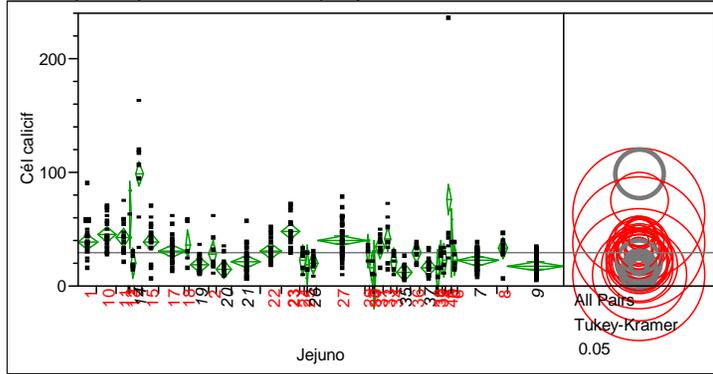
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	15116.124	419.892	3.9030	<.0001
Error	444	47766.592	107.582		
C. Total	480	62882.715			

Level	Mean	
11	A	61.876923
40	A B C	59.660000
29	A B C D E	59.100000
18	A B C D	58.360000
27	A B	56.127083
19	A B C	54.815789
21	A B C	54.427586
35	A B C	54.100000
8	A B C D E	53.310000
13	A B C D E	53.100000
24	A B C D E	53.020000
34	A B C D E	51.933333
1	A B C D	51.815789
26	A B C D E	51.766667
39	A B C D E	51.025000
15	A B C D E	50.812500
37	A B C D E	50.606250
22	A B C D	50.471429
38	A B C D E	50.300000
9	A B C D	49.954545
2	A B C D E	49.614286
31	A B C D E	48.933333
20	A B C D E	47.706667
36	A B C D E	47.700000
23	A B C D E	47.411111
10	B C D E	46.368421
12	A B C D E	45.900000
30	A B C D E	45.900000
7	C D E	45.482500
33	A B C D E	44.585714
4	A B C D E	43.475000
25	A B C D E	40.900000
5	A B C D E	39.500000
17	E	38.434615
6	B C D E	37.440000
3	B C D E	35.775000
14	D E	34.985714

Levels not connected by same letter are significantly different.

## APÊNDICE E – Contagem de células calciformes

### Oneway Analysis of Cél calcif By Jejuno



### Oneway Anova - Summary of Fit

Rsquare	0.495409
Adj Rsquare	0.454496
Root Mean Square Error	14.96373
Mean of Response	29.84823
Observations (or Sum Wgts)	481

### Analysis of Variance

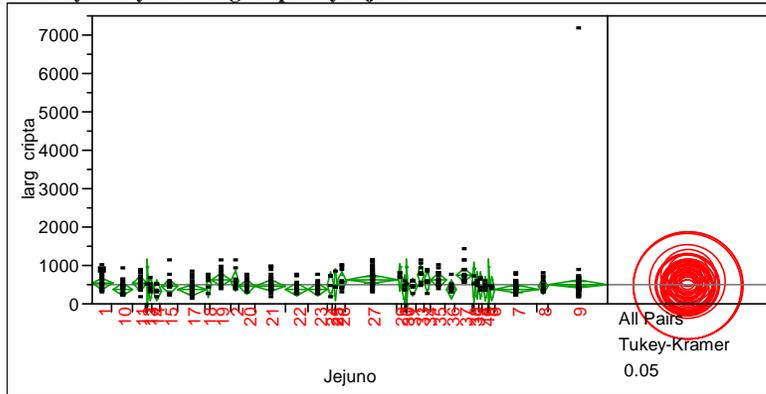
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	97608.43	2711.35	12.1089	<.0001
Error	444	99417.49	223.91		
C. Total	480	197025.92			

Level	Mean
14	98.714286
40	76.000000
12	63.000000
23	47.944444
10	45.052632
11	42.461538
33	41.142857
27	40.375000
15	39.187500
1	39.105263
5	38.000000
18	36.600000
31	34.333333
8	32.900000
17	30.884615
22	30.476190
29	30.250000
36	29.333333
2	28.428571
39	25.000000
4	22.500000
24	22.200000
6	22.200000
7	22.150000
21	21.448276
34	21.333333
26	20.444444
13	20.000000
25	18.666667
19	18.631579
9	17.909091
37	16.437500
3	16.000000
20	14.733333
35	11.642857
38	11.000000
30	10.000000

Levels not connected by same letter are significantly different.

## APÊNDICE F – Largura de cripta

### Oneway Analysis of larg cripta By Jejuno



### Oneway Anova - Summary of Fit

Rsquare	0.087299
Adj Rsquare	0.013296
Root Mean Square Error	363.7021
Mean of Response	493.8967
Observations (or Sum Wgts)	481

### Analysis of Variance

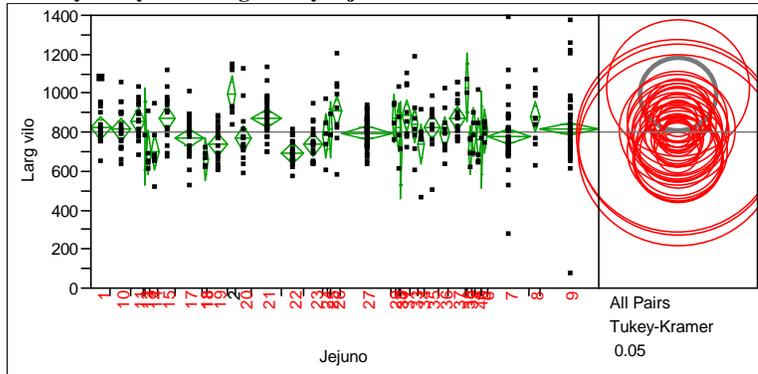
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	5617658	156046	1.1797	0.2241
Error	444	58731974	132279		
C. Total	480	64349632			

Level	Mean	
33	A	758.87143
37	A	752.71250
29	A	699.22500
27	A	629.67292
19	A	629.35789
35	A	606.44286
2	A	596.78571
26	A	580.50000
34	A	565.03333
38	A	564.85000
11	A	526.76923
1	A	522.32632
9	A	508.31455
24	A	503.00000
25	A	496.46667
18	A	480.38000
21	A	477.04483
4	A	473.75000
39	A	473.72500
8	A	458.69000
31	A	447.55556
12	A	447.20000
30	A	447.20000
15	A	446.64375
20	A	442.41333
5	A	436.10000
40	A	406.56000
13	A	400.92000
3	A	396.35000
10	A	389.56842
6	A	388.90000
7	A	388.51250
22	A	381.34762
36	A	378.77778
23	A	378.31667
17	A	355.38077
14	A	336.18571

Levels not connected by same letter are significantly different.

## APÊNDICE G – Largura de vilo

### Oneway Analysis of Larg vilo By Jejuno



### Oneway Anova - Summary of Fit

Rsquare	0.19646
Adj Rsquare	0.131309
Root Mean Square Error	126.7847
Mean of Response	804.1802
Observations (or Sum Wgts)	481

### Analysis of Variance

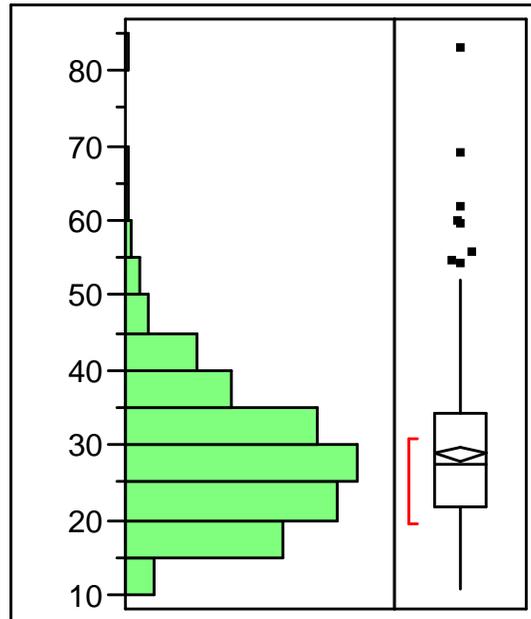
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Jejuno	36	1744958.0	48471.1	3.0154	<.0001
Error	444	7137020.9	16074.4		
C. Total	480	8881978.9			

Level		Mean
38	A B C	1027.9500
2	A	992.6714
26	A B	907.0333
31	A B C	884.2111
8	A B C	877.2400
15	A B	873.8000
37	A B	872.3125
21	A B	869.6897
29	A B C	869.0000
11	A B C	858.7462
33	A B C	838.1286
35	A B C	826.2214
3	A B C	820.7500
1	A B C	820.6895
9	A B C	816.3436
25	A B C	814.1667
10	A B C	813.4158
6	A B C	805.6200
4	A B C	800.4000
27	A B C	796.8667
36	A B C	793.7889
24	A B C	782.7800
12	A B C	780.2000
7	B C	776.9425
17	B C	769.2115
20	A B C	767.9067
40	A B C	763.3400
5	A B C	760.0000
34	A B C	742.0833
23	B C	737.0444
19	B C	737.0000
30	A B C	708.6000
39	A B C	704.4000
14	B C	698.5286
22	C	695.7286
13	B C	693.7400
18	B C	660.0800

Levels not connected by same letter are significantly different

## APÊNDICE H – Cálculo do índice de absorção

CoefiDistributions - (Índice de Absorção)



### Quantiles

100.0%	Maximum	82.908
99.5%		65.737
97.5%		50.689
90.0%		40.897
75.0%	quartile	34.144
50.0%	median	27.553
25.0%	quartile	21.821
10.0%		17.779
2.5%		14.962
0.5%		12.028
0.0%	minimum	10.831

### Moments

Mean	28.78
Std Dev	9.40
Std Err Mean	0.43
upper 95% Mean	29.63
lower 95% Mean	27.94
N	481
CV	32.66%