

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADIÇÃO DE DESINFETANTES NA ÁGUA DE BEBIDA DURANTE  
O JEJUM PRÉ-ABATE DE FRANGOS DE CORTE:  
MICROBIOLOGIA E MORFOLOGIA DO TRATO  
GASTRINTESTINAL**

**Fabiana Ribeiro Barreiro**

Médica Veterinária

**2015**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA- UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ADIÇÃO DE DESINFETANTES NA ÁGUA DE BEBIDA DURANTE  
O JEJUM PRÉ-ABATE DE FRANGOS DE CORTE:  
MICROBIOLOGIA E MORFOLOGIA DO TRATO  
GASTRINTESTINAL**

**Fabiana Ribeiro Barreiro**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral**

**Coorientadora: Profa. Dra. Silvana Martinez Baraldi-Artoni**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (área de Medicina Veterinária Preventiva).

**2015**

Barreiro, Fabiana Ribeiro  
B271a Adição de desinfetantes na água de bebida durante o jejum pré-abate de frangos de corte: microbiologia e morfologia do trato gastrintestinal. / Fabiana Ribeiro Barreiro. -- Jaboticabal, 2015  
iv, 44 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015  
Orientador: Luiz Augusto do Amaral  
Coorientadora: Silvana Martinez Baraldi Artoni  
Banca examinadora: Karina Paes Bürguer, Lizandra Amoroso, Douglas Emygdio de Faria, Hinig Isa Godoy Vicente  
Bibliografia

1. Ceco. 2. Enterococos. 3. Escherichia coli. 4. Inglúvio. 5. Microbiologia. 6. Microscopia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.44:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

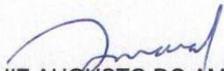
**TÍTULO:** ADIÇÃO DE DESINFETANTES NA ÁGUA DE BEBIDA DURANTE O JEJUM PRÉ-ABATE DE FRANGOS DE CORTE: MICROBIOLOGIA E MORFOLOGIA DO TRATO GASTRINTESTINAL

**AUTORA:** FABIANA RIBEIRO BARREIRO

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO DO AMARAL

**CO-ORIENTADORA:** Profa. Dra. SILVANA MARTINEZ BARALDI ARTONI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO DO AMARAL

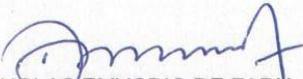
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Profa. Dra. KARINA PAES BÜRGER

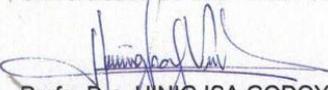
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. DOUGLAS EMYGDIO DE FARIA

Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP

  
Profa. Dra. HING ISA GODOY VICENTE

Defesa Agropecuária de Jaboticabal / Jaboticabal/SP

Data da realização: 26 de fevereiro de 2015.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**FABIANA RIBEIRO BARREIRO** – nascida em São Paulo – SP, em 18 de dezembro de 1986, cursou ensino fundamental na Escola São José de Porto Feliz e médio no Colégio Porto dos Bandeirantes, na cidade de Porto Feliz – SP. É Médica Veterinária formada pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus Jaboticabal, em janeiro de 2010, CRMV-SP nº 26657. Em fevereiro de 2012, concluiu o Mestrado em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Câmpus de Jaboticabal, que resultou na dissertação intitulada “Influência do jejum e do cloro sobre a microbiologia e morfometria intestinal de frangos de corte durante o período pré-abate”, fomentada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP (bolsa de Mestrado: processo 2009/13622-4; Auxílio à Pesquisa: 2009/54617-3). Em março de 2012, iniciou o Doutorado em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva) nesta mesma instituição, com suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP através da bolsa de Doutorado (Processo 2011/20761-0) e Auxílio à Pesquisa (Processo 2012/50301-4).

“Se tu estás verdadeiramente comprometido com tua meta... O Universo inteiro conspira a teu favor para que apareçam os instrumentos e pessoas, que te permitirão lográ-lo.”

Goethe

Dedico essa dissertação aos meus pais por sempre me incentivarem e por muitas vezes terem abdicado dos seus próprios sonhos para que eu pudesse viver os meus.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por sempre colocar as oportunidades certas na hora exata em minha vida.

Aos meus pais, Silvana Flores Ribeiro Barreiro e Germam Venegas Barreiro, por me ensinarem a ser sempre feliz, mesmo em meio a todas dificuldades. Obrigada pelo carinho, amor, apoio e compreensão que sempre me proporcionaram!

À minha tia, Regina Flores Ribeiro, pelo apoio e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, por me permitir conviver ao seu lado durante todo o período de mestrado e doutorado, sempre demonstrando em suas atitudes e palavras o exemplo de como ser um ótimo profissional e um excelente cidadão. Muito obrigada pela oportunidade de poder aprender com a pessoa especial que você é, professor!

À minha coorientadora, Profa. Dra. Silvana Martinez Baraldi Artoni, por estar presente em minha vida desde 2005, quando ingressei na universidade, e por ser minha professora, orientadora, amiga e conselheira. É por conhecer pessoas como você e o Prof. Amaral que tenho a absoluta certeza de que Deus está presente em todos os momentos da minha vida, sempre colocando em meu caminho ótimos exemplos para que eu possa me inspirar.

A todos os companheiros de laboratório e amigos que me auxiliaram na execução do experimento: Laryssa Freitas Ribeiro, Letícia Fernanda Lavezzo, Thaíza Rancan Ferreira da Costa, Rafael Akira Sato, João Paulo Martins Chiquini, Carlos Eduardo Gamero Aguilar, Anne Caroline Ramos dos Santos e Bruna Ribeiro Pazetto. Sem a ajuda de vocês, esse experimento não teria acontecido.

Ao Prof. Dr. José Carlos Barbosa, pelo auxílio na análise estatística.

Aos funcionários do aviário, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal e da Microscopia Eletrônica, especialmente: Lila, Diba, Robson, Vicente, Isildo, Orandi e Cláudia por todo apoio nas análises.

À comissão examinadora do Exame Geral de Qualificação (Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi Junior, Profa. Dra. Laura Satiko Okada Nakaghi, Profa. Dra. Lizandra Amoroso, Profa. Dra. Karina Paes Burger) e da Defesa (Profa. Dra. Lizandra Amoroso, Profa. Dra. Karina Paes Burger, Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria, Dra. Hinig Isa Godoy Vicente), pelas suas valiosas correções e sugestões que melhoraram a qualidade do trabalho.

A todos os amigos, por sempre dividirem comigo as alegrias e também os momentos difíceis. Muito obrigada pelo apoio, companheirismo, cumplicidade e auxílio em todos os momentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro através da bolsa de Doutorado (Processo 2011/20761-0) e Auxílio à Pesquisa (Processo 2012/50301-4) que possibilitou a execução desse projeto.

É muito difícil conseguir citar os nomes de todos os que participaram da minha vida durante esses anos... Mas podem ter a certeza de que deixaram algo importante de si e levaram muito de mim também. Obrigada a todos pelas novas experiências, conhecimento e momentos especiais!

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	iii
ABSTRACT .....	iv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1. Objetivo geral .....	8
2.2. Objetivos específicos .....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
3.1. Análises microbiológicas .....	11
3.1.1. Colheita e diluição das amostras provenientes do ingluvío e do conteúdo cecal (APHA, 2001).....	11
3.1.1.1 Inglúvio.....	11
3.1.1.2. Conteúdo cecal.....	12
3.1.2. Contagem de <i>Escherichia coli</i> e enterococos (APHA, 2001) nas amostras de ingluvío e conteúdo cecal.....	12
3.1.2.1. Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	12
3.1.2.2. Contagem de enterococos.....	12
3.2. Análises histológicas.....	13
3.2.1. Colheita do duodeno e jejuno.....	13
3.2.2. Morfometria do duodeno e jejuno.....	13
3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno.....	14
3.3. Análise estatística.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4.1. Análise microbiológica do ingluvío.....	15
4.2. Análise microbiológica do conteúdo cecal.....	18
4.3. Morfometria e microscopia eletrônica de varredura.....	20
5. CONCLUSÕES .....	26
6. REFERÊNCIAS .....	27

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Unidades Formadoras de Colônias (UFC) $\pm$ erro padrão da média de <i>Escherichia coli</i> e enterococos [ $y=\log (x)$ ] no inglúvio (UFC. mL <sup>-1</sup> de solução de transporte do suabe) e ceco (UFC. g <sup>-1</sup> de conteúdo cecal) de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.....	15
2. Valores médios $\pm$ erro padrão da média referente à altura e largura (micrômetros- $\mu\text{m}$ ) dos vilos intestinais do duodeno e jejuno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate .....	20

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Boxe com sistema de fornecimento de água.....	10
2. Eletronmicrografias (15 kV x 100) do duodeno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.....	21
3. Eletronmicrografias (15 kV x100) do jejuno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.....	22

## ADIÇÃO DE DESINFETANTES NA ÁGUA DE BEBIDA DURANTE O JEJUM PRÉ-ABATE DE FRANGOS DE CORTE: MICROBIOLOGIA E MORFOLOGIA DO TRATO GASTRINTESTINAL

**RESUMO** - O objetivo desse experimento foi avaliar a eficiência do uso de desinfetantes aprovados para uso na indústria alimentícia na água de frangos de corte, desde o início da restrição alimentar até o fim do período de jejum e início da apanha, para a diminuição de *Escherichia coli* e enterococos no inglúvio e no conteúdo cecal das aves, que são microrganismos indicadores da presença de patógenos intestinais. Também foi avaliado se esses desinfetantes associados ao jejum causaram algum dano intestinal que poderia facilitar a disseminação de microrganismos para a carcaça. Foram utilizados 60 frangos de corte da linhagem Cobb, distribuídos em boxes de acordo com o tratamento. O período de jejum aplicado foi de 12 horas e os desinfetantes adicionados na água de bebida do jejum pré-abate eram à base de iodo, amônia quaternária, biguanida e ácido peracético. Foram coletadas amostras de conteúdo cecal e inglúvio, para análise microbiológica; e o duodeno e jejuno para análise histológica. Concluiu-se que é recomendável associar a prática do jejum pré-abate com algum método de antissepsia do inglúvio. Os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária e ácido peracético não demonstram bons resultados para o uso na água de bebida de frangos de corte, visando a diminuição das populações de microrganismos do inglúvio. O desinfetante à base de biguanida, em associação com o jejum pré-abate, foi eficiente na redução da quantidade de enterococos no inglúvio. Porém, deve-se ter cautela ao recomendar o seu uso na água de bebida de frangos de corte, já que ocorreu aumento da quantidade de *Escherichia coli* no conteúdo cecal. O desinfetante à base de ácido peracético promoveu a integridade dos vilos intestinais quando associado ao jejum, o que significa menor risco de disseminação de microrganismos patogênicos presentes no conteúdo intestinal para a carcaça.

**Palavras-chave:** ceco, enterococos, *Escherichia coli*, inglúvio, microbiologia, microscopia

**ADDITION OF DISINFECTANTS TO BROILER DRINKING WATER DURING  
PRESLAUGHTER FEED WITHDRAWAL: MICROBIOLOGY AND MORPHOLOGY  
OF THE GASTROINTESTINAL TRACT**

**ABSTRACT** – The objective of this experiment was to test whether the addition of disinfectants approved for use in food industry to broiler drinking water during pre-slaughter feed withdrawal period was efficient in reducing the quantities of microorganisms, such as *Escherichia coli* and Enterococci, in broiler crops and ceca. Reduction of these microorganisms would likely also reduce pathogenesis post-slaughterhouse. It was also investigated if these disinfectants caused some intestinal damage that could lead to dissemination of microorganisms to the carcass. A total of 60 Cobb male broilers were distributed in pens according to the treatments. The preslaughter period was 12 hours and the disinfectants added to water during this period were based on iodine, quaternary ammonium, biguanide, and peracetic acid. Samples of crop and cecal content were collected for microbiological analysis; and duodenum and jejunum for histological analysis. The conclusion was that preslaughter feed withdrawal should be coupled with methods for crop disinfection. Disinfectants based on iodine, quaternary ammonium and peracetic acid did not present satisfactory results for use in broiler drinking water to decrease the microorganism populations from crop. Biguanide-based disinfectant, in association with preslaughter feed withdrawal, reduced the enterococci amount from crop. However, the recommendation of its addition to broiler drinking water must be done with caution, because cecal content presented higher quantities of *E. coli* when biguanide was used. Peracetic-acid based disinfectant promoted intestinal villi integrity when associated to preslaughter feed withdrawal, decreasing the risk of dissemination of pathogenic microorganisms from intestinal content to the carcass.

**Keywords:** cecum, enterococci, *Escherichia coli*, crop, microbiology, microscopy

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição importante no cenário mundial como produtor e exportador de carne de frango. Para que toda essa cadeia produtiva continue sendo capaz de suprir as demandas do mercado interno e externo e para que os preços baixos se mantenham, a redução dos custos, a manutenção da qualidade dos produtos e a maximização da produção são necessárias.

O jejum alimentar pré-abate é considerado uma etapa importante para o processamento de aves porque influencia na qualidade e no rendimento da carne, no bem estar animal e na integridade intestinal (PEREIRA, 2010). Porém, são necessários estudos aprofundados para que sejam estabelecidos os efeitos que esta prática já consolidada na rotina da produção animal pode ter em relação aos vários parâmetros envolvidos na segurança do consumidor e na qualidade do produto.

Alguns estudos (BARNHART et al., 1999; BARREIRO et al., 2012) já comprovaram a eficácia do uso de desinfetantes na água de bebida de frangos de corte durante o período de jejum pré-abate e, portanto, é importante que se avalie a possibilidade do uso de outros princípios ativos para se tentar reduzir *in vivo* a quantidade de microrganismos potencialmente patogênicos no trato gastrointestinal das aves, diminuindo assim a probabilidade de contaminação das carcaças durante o processamento no abatedouro.

Os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária, biguanida e ácido peracético são aprovados para uso na indústria de alimentos e seus efeitos no trato gastrointestinal das aves são avaliados no presente experimento.

Este trabalho proporciona um melhor entendimento dos aspectos relacionados à microbiologia e à morfologia de porções do trato gastrointestinal responsáveis por grande parte da incidência de contaminação das carcaças no abatedouro, buscando-se uma alternativa para ser aplicada no período de jejum pré-abate através do uso de desinfetantes na água de bebida de frangos de corte.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O jejum pré-abate é uma prática rotineira na indústria avícola e tem por objetivo diminuir a contaminação das carcaças no abatedouro e os gastos com ração, já que o alimento fornecido às aves poucas horas antes do abate não será transformado em carne. Tal procedimento tem por objetivo diminuir a contaminação com resíduos alimentares presentes no trato gastrointestinal das aves e melhorar a eficiência na produção, já que diminui os custos (DUKE; BASH; NOLL, 1997; NORTHCUTT; SAVAGE; VEST, 1997).

O assunto vem sendo estudado por vários pesquisadores, e foi definido como tempo ótimo para reduzir a incidência de contaminação e não afetar o rendimento de carcaça, o período de 8 a 12 horas sem alimento (SMIDT; FORMICA; FRITZ, 1964; WABECK, 1972; POST, 1985; LYON; PAPA; WILSON JUNIOR, 1991). O tempo do jejum tem início na granja com a interrupção do acesso das aves aos alimentos, porém a água continua sendo fornecida até o momento da apanha (NORTHCUTT et al., 2003). O procedimento de retirada da água ao mesmo tempo que a ração é incorreto, pois a água auxilia na passagem do alimento pelo sistema digestório, auxiliando na eliminação mais rápida dos resíduos do trato gastrointestinal.

Mendes (2001) afirmou que, para que haja menor contaminação no abatedouro, é fundamental que o inglúvio e o intestino estejam vazios. Deve-se atentar também para o fato de que à medida que o tempo de jejum aumenta, o peso das aves diminui (MENDES, 2001) devido à desidratação ocorrida nos músculos (DUKE; BASH; NOLL, 1997). Portanto, assegurar o fornecimento da água durante o jejum pré-abate diminui essa perda de peso por desidratação nos músculos, minimizando os prejuízos. Assayag Junior et al. (2005) compararam o tempo de jejum pré-abate com a perda de peso, sendo avaliados os períodos de jejum de uma a 12 horas. Este estudo confirmou que quanto maior o tempo de jejum, maior a perda de peso, evidenciando que este não deve ser muito longo para evitar perdas no rendimento da carcaça.

As aves comem a cada quatro horas, quando não estimuladas, e bebem água logo após terem ingerido a ração para solubilizar o conteúdo presente no inglúvio

(MENDES, 2001). Cerca de 75% do alimento é excretado em até 12 horas, entretanto a parte do alimento presente nos cecos, aproximadamente 10 a 12%, necessita de até 72 horas para ser excretado (DUKE; BASH; NOLL, 1997; BILGILI, 2002).

Nos períodos curtos de jejum alimentar, menores que seis horas, o trato digestório das aves está cheio de alimento e os intestinos apresentam-se grandes e arredondados no momento do abate, ocupando grande volume na cavidade celômica e aumentando a probabilidade de extravasamento do conteúdo do trato gastrintestinal durante a evisceração (WABECK, 1972). Se o período de jejum alimentar for longo, acima de 12 horas, os intestinos tornam-se frágeis e a incidência do rompimento durante a evisceração tende a aumentar.

Bilgili (1988) relatou que a força necessária para o rompimento do duodeno é maior em aves submetidas a jejum de 6 a 12 h e menor em aves que não ingeriram ração em um período entre 18 e 24 h. Northcutt, Savage e Vest (1997) verificaram que danos na mucosa causados pelo jejum podem servir como porta de entrada aos microrganismos patogênicos presentes no conteúdo intestinal, ocorrendo disseminação para a corrente sanguínea e, conseqüentemente, para a carcaça, o que representa um risco para a saúde do consumidor. Além disso, foi observado gás como produto da fermentação bacteriana, evidenciado pela forma cilíndrica e paredes excessivamente distendidas do intestino, demonstrando que períodos prolongados de jejum pré-abate podem causar alterações na forma das vísceras, aumentando a possibilidade de ocorrer rompimento devido à maior fragilidade intestinal resultante da parede adelgada pelo estiramento causado pelos gases (NORTHCUTT; SAVAGE; VEST, 1997). Ang e Hamm (1985) também afirmaram que jejuns prolongados podem causar danos teciduais metabólicos que facilitam a disseminação de microrganismos patogênicos para a carcaça, representando risco à saúde pública. Períodos prolongados de jejum devem ser evitados também porque permitem que as aves consumam outros materiais disponíveis, como fezes e resíduos da cama, que aumentam o potencial de contaminação das carcaças no abatedouro (RASMUSSEN; MAST, 1989; LYON; PAPA; WILSON JUNIOR, 1991). Northcutt, Savage e Vest (1997) afirmaram que aves processadas após jejum pré-abate de 9 a 12 horas possuíam bile e cama como conteúdo intestinal, indicando

que essas aves ingerem cama durante o jejum para aliviar a sensação de fome, aumentando, assim, a contaminação do trato gastrointestinal.

As carcaças de frangos de corte que são contaminadas com o conteúdo do trato gastrointestinal durante o processo de abate são lavadas ou têm a parte afetada eliminada, podendo em alguns casos serem condenadas totalmente. Isso atrasa o abate e aumenta o custo do processamento, além de colocar em risco a saúde do consumidor quando o controle de qualidade do abatedouro não é eficiente (LYON; PAPA; WILSON JUNIOR, 1991). A contaminação ocorre quando há rompimento das vísceras do trato digestório ou quando as fezes que ficam aderidas às penas, pele e pernas durante o transporte, entram em contato com a carcaça das aves durante o seu processamento.

O transporte é uma causa importante de estresse no pré-abate. Em um lote contaminado, o estresse das aves determina um aumento na eliminação de material fecal (DELAZARI, 2001) e eleva significativamente a proporção de aves que eliminam *Salmonella* spp. nas fezes (MEAD, 1989). Delazari (2001) constatou que após o transporte, ocorreu aumento de dez vezes no nível de *Escherichia coli* na superfície do músculo peitoral dos frangos, em um período de apenas cinco horas. Berrang et al. (2001) afirmaram que quando um lote de frangos contaminado por *Campylobacter* spp. entra na planta processadora, grande quantidade do agente já está aderida e é transferida para a pele durante a retirada das penas, contaminando assim, a carcaça.

Deve-se considerar também que os microrganismos provenientes da contaminação intestinal são responsáveis pela deterioração dos produtos procedentes das aves abatidas, diminuindo o tempo de prateleira dos mesmos e causando prejuízos para os vendedores e consumidores que adquirem o produto (LEITÃO, 2001).

Stern et al. (2001) relataram que são necessárias medidas específicas de controle tanto na granja como na indústria, para se reduzir a contaminação nas carcaças. Sendo assim, devem ser estudados métodos para minimizar, durante o período pré-abate, a quantidade de microrganismos potencialmente patogênicos e diminuir, assim, a probabilidade destes entrarem em contato com a superfície externa das aves e com a carcaça durante a evisceração.

O frango de corte possui microbiota intestinal bastante diversificada, sendo alguns destes microrganismos potencialmente patogênicos (MEAD, 1989; HAFEZ, 1999). Durante o jejum pré-abate, o esvaziamento do trato gastrintestinal provoca alteração no pH do conteúdo intestinal, favorecendo a instalação e multiplicação de determinados microrganismos patogênicos em alguns segmentos do sistema digestório. Hinton, Buhr e Ingran (1998) observaram que ao longo do período de jejum pré-abate, o número de bactérias aeróbias totais e enterobactérias aumentava e a quantidade de bactérias que se multiplicam em meio ácido reduzia. Concluíram também que esse fato pode desempenhar um papel importante na colonização dos cecos por patógenos responsáveis por toxinfecções alimentares.

A maioria das pesquisas direcionadas para as fontes de *Salmonella* spp. no processamento da carcaça estão centralizadas na colonização intestinal e, especificamente, cecal (FANELLI et al., 1971; SNOEYENBOS et al., 1982; CORRIER et al., 1990 a, b). Porém, Ramirez et al. (1997) desafiaram frangos de corte com *Salmonella* Enteritidis e concluíram que o jejum aumenta a presença deste microrganismo também no inglúvio das aves, representando assim um ponto crítico para reduzir a contaminação das carcaças no abatedouro. Foi observada também maior incidência de *Salmonella* spp. no inglúvio com o aumento do período de restrição alimentar (HARGIS et al., 1995). É possível que isso possa estar relacionado com a ingestão de cama pelas aves durante o jejum.

Ludtke (2008) relatou que os *Lactobacillus* spp. presentes no inglúvio mantêm o pH em torno de 3,6, impedindo a multiplicação de *Salmonella* spp., pois o pH ideal para desenvolvimento deste microrganismo é de 6,5 a 7,5. Entretanto, o aumento do tempo de jejum eleva o pH do inglúvio, possibilitando a proliferação de *Salmonella* spp. Associada à ingestão de cama devido à longa privação de alimento, a carga bacteriana no inglúvio eleva-se e a probabilidade deste contaminar toda a carcaça durante o rompimento aumenta.

Hargis et al. (1995) afirmaram que o inglúvio apresenta-se com uma população de *Salmonella* spp. 3,5 vezes maior do que a do ceco, e que se rompe 85 vezes mais durante o processamento no abatedouro quando comparado ao ceco. Além disso, Byrd et al. (1998) observaram que 62% dos inglúvios dos frangos em

sete das nove criações avaliadas, amostrados imediatamente antes do transporte para o abatedouro, foram positivos para *Campylobacter* spp.

A determinação da totalidade de microrganismos patogênicos presentes no trato gastrointestinal é limitada por questões de ordem prática, técnica e econômica. Por isso, os microrganismos indicadores são utilizados para sugerir a presença de patógenos nas amostras analisadas. As bactérias do grupo coliforme são indicadoras de contaminação fecal e são importantes para avaliar a potencialidade que uma amostra apresenta em transmitir patógenos presentes no ambiente intestinal (VON SPERLING, 1996). A *Escherichia coli* é um membro do grupo dos coliformes e sua presença em amostras pode indicar a contaminação por outros patógenos intestinais. É o único biótipo da família Enterobacteriaceae que pode ser considerado exclusivamente de origem fecal (BARRELL et al., 2002). Os enterococos fazem parte do grupo dos estreptococos fecais e tem o trato gastrointestinal como habitat natural, ocorrendo em grande quantidade nas fezes (SILVA et al., 2000). São comumente utilizados como microrganismos indicadores, assim como a *E. coli*.

Os desinfetantes são formulações que têm na sua composição substâncias microbidas e apresentam efeito letal para microrganismos não esporulados (BRASIL, 1988). Domingues e Langoni (2001) afirmaram que existem poucos desinfetantes universais, bem como destacam a necessidade de haver controle sobre a atividade biocida dos produtos existentes.

O Ministério da Saúde através da Portaria nº 15 (BRASIL, 1988), Portaria nº 122 (BRASIL, 1993) e Resolução nº 211 (BRASIL, 1999) normatiza quais princípios ativos são permitidos para uso como desinfetante na indústria de alimentos. Dentre os princípios ativos autorizados estão o iodo, a amônia quaternária, a biguanida e o ácido peracético.

Os iodóforos são compostos formados pelo agente químico antimicrobiano iodo com agentes tenso-ativos, que funcionam, ao mesmo tempo, como carreadores e solventes desse elemento. Apresentam as características bactericidas rápidas e irreversíveis do iodo, tendo como vantagens gerais adicionais não mancharem as superfícies e não serem irritantes de mucosa (PELCZAR, 1980). O exato mecanismo através do qual o iodo age como microbicida não está esclarecido, mas assume-se

como sendo principalmente provocado pela alteração na síntese proteica devido à oxidação do grupo S-H da cisteína (GOTTARDI, 1991).

Os compostos de amônia quaternária são detergentes catiônicos sintéticos com atividade antimicrobiana. Possuem boa estabilidade, solubilidade em água e toxicidade baixa (PELCZAR, 1980). A ação bactericida é atribuída à inativação de enzimas responsáveis pelos processos de transformação de energia, à desnaturação de proteínas celulares e à ruptura da membrana celular (ROMÃO, 1996).

As biguanidas constituem um grupo de desinfetantes com porções hidrófilas e hidrófobas em sua molécula. A interação com a célula bacteriana se faz através da adsorção iônica com cargas negativas da sua superfície, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática e penetrando assim no interior da célula, o que provoca a precipitação dos constituintes citoplasmáticos e, em consequência, a morte celular (BOARDMAN, 1969).

O ácido peracético é um desinfetante com largo espectro de atividade antimicrobiana usado em várias indústrias incluindo a de processamento de alimentos. Possui propriedades bactericidas, virucidas, fungicidas e esporicidas. Como características, podem ser citados o largo espectro de atividade mesmo na presença de matéria orgânica, ausência de subprodutos tóxicos e mutagênicos e baixa dependência do pH da água (BALDRY, 1982; BLOCK, 2001).

Barnhart et al. (1999) avaliaram o uso de desinfetantes (D-limonene e ácido cítrico) durante o período de jejum pré-abate de frangos de corte e obtiveram resultados que indicam a possibilidade do uso de um desinfetante nesse período com objetivo de reduzir a presença de patógenos no inglúvio. Estes autores afirmaram também que testes devem ser feitos com outros produtos para comprovar a eficácia da antissepsia ante-mortem do inglúvio, visando assim viabilizar o uso desses produtos em escala comercial para reduzir ou eliminar os patógenos de origem alimentar que podem tornar-se um grande problema de saúde pública.

Barreiro et al. (2012) analisaram o efeito do uso de cloro na água de bebida de frangos de corte durante o período pré-abate e concluíram que este desinfetante foi eficiente em reduzir a quantidade de *E. coli* e enterococos no inglúvio. Portanto, esse desinfetante deve ser usado em conjunto com o jejum pré-abate, já que o uso

apenas do jejum aumentou a quantidade destes microrganismos no ingluvío, representando assim um alto risco de contaminação das carcaças durante o processamento no abatedouro. Também concluíram que o cloro não causou danos à mucosa intestinal, e, inclusive, diminuiu a extrusão dos vilos.

Como pode ser visto, muitos fatores aliam-se durante o jejum pré-abate e favorecem o estabelecimento e a multiplicação de patógenos. Por isso, é importante que sejam estudados meios de se reduzir a carga microbiana proveniente de contaminação gastrointestinal e aumentar a segurança alimentar para produtos derivados de frangos de corte.

## **2.1. Objetivo geral**

O objetivo desse experimento foi avaliar a eficiência do uso de desinfetantes aprovados para indústria alimentícia na água de frangos de corte, desde o início da restrição alimentar até o fim do período de jejum e início da apanha, para a diminuição de microrganismos como *Escherichia coli* e enterococos no ingluvío e no conteúdo cecal das aves, pois se ocorrer diminuição na quantidade desses microrganismos, é muito provável que os patogênicos também seguirão essa mesma tendência. Também foi analisado se esses desinfetantes associados ao jejum causaram algum dano intestinal que poderia facilitar a disseminação de microrganismos para a carcaça.

## **2.2. Objetivos específicos**

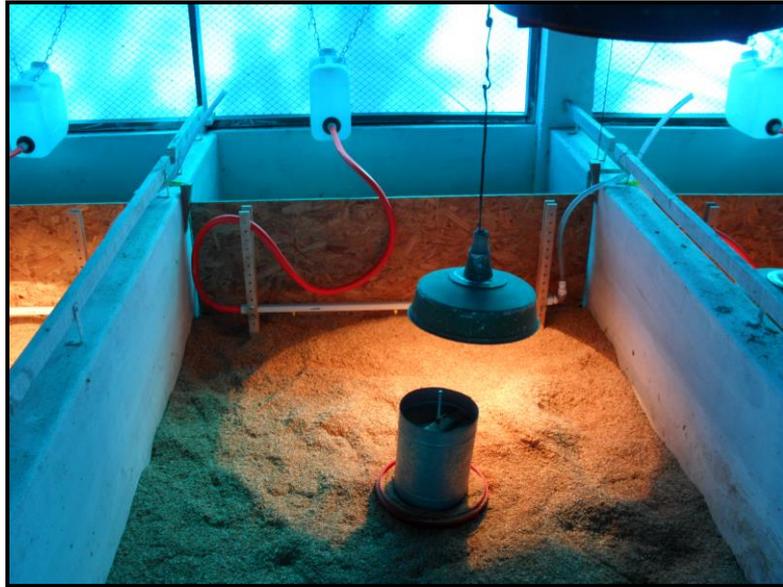
- Estudar o efeito do jejum pré-abate na microbiologia do ingluvío e do ceco e na morfologia do duodeno e jejuno dos frangos de corte.
- Avaliar o efeito de desinfetantes aprovados para uso na indústria alimentícia na população de microrganismos do ingluvío e conteúdo cecal das aves, após adição na água durante o período de jejum pré-abate.
- Analisar a integridade do duodeno e jejuno de frangos de corte, após a ingestão das soluções desinfetantes durante o período de jejum pré-abate.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP Câmpus Jaboticabal. Foram utilizados 60 frangos de corte machos da linhagem Cobb, distribuídos em boxes de acordo com o tratamento utilizado. O manejo adotado foi o usualmente utilizado na criação comercial de frangos de corte.

Os galpões utilizados foram do tipo convencional, contendo cama de casca de arroz nova, equipados durante o período inicial com campânulas contendo lâmpada incandescente para aquecimento dos pintainhos, comedouros tipo tubular infantil e bebedouros tipo “nipple”. A substituição dos equipamentos infantis ocorreu no sétimo dia de idade. O controle do aquecimento foi feito através do manejo das cortinas de acordo com a necessidade das aves. O programa de luz adotado foi o de 24 horas de iluminação em todas as fases de criação. No sétimo dia de vida as aves receberam vacinas, via ocular, contra a doença de Gumboro e Newcastle, e no 14º dia contra Gumboro (reforço). Água e rações foram fornecidas *ad libitum*. Foram utilizadas rações comerciais Presence<sup>®</sup>, sendo que foi fornecida ração inicial até os 21 dias de idade e a ração de crescimento até o abate, conforme as recomendações do fabricante.

Cada boxe (Figura 1) foi equipado com um sistema individual de fornecimento de água (recipiente plástico com capacidade para dez litros conectado com mangueira a uma linha de bebedouro tipo “nipple” com três válvulas de saída) para que os desinfetantes pudessem ser fornecidos separadamente pela água. Os galões eram abastecidos de forma manual com água da torneira do galpão. As linhas dos bebedouros tipo “nipple” foram apoiadas em suportes de madeira através dos quais era possível controlar a altura do bebedouro no decorrer do experimento, de acordo com o crescimento das aves.



**Figura 1.** Boxe com sistema de fornecimento de água.

Foram definidos seis tratamentos:

- Sem jejum durante o período pré-abate;
- 12 horas de jejum sem adição de desinfetante na água;
- 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de iodo na água;
- 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de amônia quaternária na água;
- 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de biguanida na água;
- 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de ácido peracético na água.

Os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária, biguanida polimérica e ácido peracético foram adicionados na água do jejum pré-abate nas concentrações recomendadas pelo fabricante para água de consumo (1 para 2000, 1 para 2000, 1 para 6000 e 30 ppm, respectivamente).

O abate das aves foi realizado aos 42 dias (protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA: 008756/12) no abatedouro do Laboratório de Ciências Avícolas da UNESP, Câmpus Jaboticabal. Ao final do período de jejum, foram

colhidas amostras de conteúdo cecal e inglúvio. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com dez repetições (aves) por tratamento para as análises microbiológicas e cinco para as análises histológicas.

### **3.1. Análises microbiológicas**

#### **3.1.1. Colheita e diluição das amostras provenientes do inglúvio e do conteúdo cecal (APHA, 2001)**

##### **3.1.1.1. Inglúvio**

Para colher as amostras da superfície interna do inglúvio, foi utilizado suabe esterilizado, sendo que este foi friccionado por toda superfície interna do inglúvio dos frangos abatidos. Os suabes foram colocados em tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo TSB (triptona de soja). Após a colheita, as amostras foram transportadas ao laboratório em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, para processamento logo após sua chegada. As diluições foram feitas adicionando os 5 mL da solução que continha os suabes, após a homogeneização, em 45 mL de água peptonada a 0,1% obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ . A partir dessa diluição, foram realizadas diluições decimais consecutivas (até  $10^{-10}$ ), utilizando-se a mesma proporção.

##### **3.1.1.2. Conteúdo cecal**

As amostras do conteúdo cecal foram colhidas de maneira asséptica e com material esterilizado, diretamente do ceco das aves abatidas. As amostras de 0,1 g do conteúdo cecal foram acondicionadas em frascos contendo 9,9 mL de água peptonada a 0,1% tamponada obtendo-se assim a diluição  $10^{-2}$ . Após a colheita, as amostras foram transportadas ao laboratório em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, para processamento logo após sua chegada. A partir da diluição  $10^{-2}$ , foram realizadas diluições decimais consecutivas (até  $10^{-20}$ ), utilizando-se a mesma proporção.

### **3.1.2. Contagem de *Escherichia coli* e enterococos (APHA, 2001) nas amostras de ingluvío e conteúdo cecal**

#### **3.1.2.1. Contagem de *Escherichia coli***

A partir das diluições das amostras provenientes do ingluvío e conteúdo cecal, foi inoculado 0,1 mL na superfície do ágar Violet Red Bile com MUG- BD (Difco). Após a inoculação de cada diluição em duplicata, as placas foram incubadas invertidas a 35°C por 24 horas e consideradas positivas as colônias com fluorescência sob a ação de luz UV (365 nm). Foram selecionadas para contagem as placas contendo entre 30 e 300 colônias. O número de colônias obtido foi multiplicado por 10 e pelo fator de diluição da amostra para a obtenção do resultado final. Os resultados foram expressos em UFC. mL<sup>-1</sup> de solução de transporte do suabe e UFC. g<sup>-1</sup> de conteúdo cecal.

#### **3.1.2.2. Contagem de enterococos**

A partir das diluições das amostras de conteúdo cecal e suabe do ingluvío, foi inoculado 0,1 mL na superfície do ágar m-Enterococcus (Difco). Após a inoculação de cada diluição em duplicata, as placas foram incubadas invertidas a 35-37°C por 24-48 horas e consideradas positivas para enterococos as colônias de cor vermelha. Foram selecionadas para contagem as placas contendo entre 30 e 300 colônias. O número de colônias obtido foi multiplicado por 10 e pelo fator de diluição da amostra para a obtenção do resultado final. Os resultados foram expressos em UFC. mL<sup>-1</sup> de solução de transporte do suabe e UFC. g<sup>-1</sup> de conteúdo cecal.

## **3.2. Análises histológicas**

### **3.2.1. Colheita do duodeno e jejuno**

As porções médias do duodeno e jejuno foram colhidas após o período de jejum, aos 42 dias de idade. As amostras foram fixadas por imersão em Bouin durante 24 horas para a morfometria e em glutaraldeído a 3% para a microscopia eletrônica de varredura.

### **3.2.2. Morfometria do duodeno e jejuno**

Após 24 horas de fixação em Bouin, as amostras foram lavadas em álcool etílico a 70% e mantidas nessa solução até a desidratação, em séries crescentes de álcool. As amostras foram recortadas, diafanizadas em benzol e processadas, com o intuito de incluir o material em Histosec. A seguir, foram realizados quatro cortes histológicos semisseriados de 7  $\mu\text{m}$  de espessura e corados segundo a técnica de Hematoxilina e Eosina – HE (TOLOSA et al., 2003) para cada ave. Posteriormente o material foi acondicionado em caixas histológicas numeradas de acordo com os tratamentos. As lâminas devidamente coradas foram analisadas em um fotomicroscópio binocular e foi realizada a seleção aleatória de 120 campos por tratamento. As imagens pertinentes à avaliação morfométrica foram capturadas com o auxílio da microcâmera *Olympus DP 11* acoplada ao microscópio e armazenadas em um cartão de memória. As imagens de interesse do intestino delgado das aves foram analisadas com o auxílio do software *Image Pro Plus®*, Media Cybernetics, Brasil, versão 4.1. As características morfométricas do intestino delgado que foram avaliadas incluíram a altura e a largura ( $\mu\text{m}$ ) dos vilos intestinais do duodeno e jejuno.

### **3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno**

Após serem retirados dos frascos contendo solução conservadora de glutaraldeído 3%, os fragmentos de intestino foram lavados por seis vezes consecutivas em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,6 e então pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio a 1% durante 30 minutos, à temperatura de 4°C. Posteriormente, as amostras foram novamente lavadas com o mesmo tampão por seis vezes consecutivas, desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico (30, 50, 70, 80, 90 e 100%), 20 minutos em cada concentração, sendo que, na última, as amostras foram lavadas por três vezes consecutivas, 20 minutos em cada lavagem. Depois de cada desidratação, o material passou pela câmara do secador de ponto crítico (EMS-850), mediante a utilização de dióxido de carbono. O material foi montado em porta objeto apropriado, recoberto com uma camada de 30 nm de ouro e finalmente, eletronicografado em microscópio eletrônico de varredura (Modelo Jeol JSM 54 10), operando em 15 KV. As imagens foram utilizadas para ilustrar o efeito de cada tratamento na superfície da mucosa intestinal.

### **3.3. Análise estatística**

Os métodos de análise estatística foram a Análise de Variância pelo Teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa computacional Agroestat para as análises estatísticas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise microbiológica do Inglúvio

Os resultados referentes à análise microbiológica do Inglúvio e do conteúdo cecal estão presentes na Tabela 1.

**Tabela 1.** Unidades Formadoras de Colônias (UFC)  $\pm$  erro padrão da média de *Escherichia coli* e enterococos [ $y=\log(x)$ ] no Inglúvio (UFC. mL<sup>-1</sup> de solução de transporte do suabe) e ceco (UFC. g<sup>-1</sup> de conteúdo cecal) de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.

Tratamentos*	Inglúvio		Ceco	
	<i>E. coli</i>	Enterococos	<i>E. coli</i>	Enterococos
<b>Sem jejum</b>	2,5 $\pm$ 0,19c	3,31 $\pm$ 0,24c	9,91 $\pm$ 1,07ab	5,99 $\pm$ 0,17b
<b>Jejum</b>	3,95 $\pm$ 0,28bc	5,46 $\pm$ 0,25a	8,4 $\pm$ 0,35b	5,95 $\pm$ 0,17b
<b>Iodo</b>	5,02 $\pm$ 0,44b	4,74 $\pm$ 0,33ab	8,24 $\pm$ 0,36b	6,95 $\pm$ 0,22a
<b>Amônia quaternária</b>	7,41 $\pm$ 0,36a	5,81 $\pm$ 0,32a	8,97 $\pm$ 0,4ab	6,24 $\pm$ 0,16ab
<b>Biguanida</b>	4,92 $\pm$ 0,49b	4,19 $\pm$ 0,27bc	11,73 $\pm$ 0,91a	5,57 $\pm$ 0,21b
<b>Ácido peracético</b>	4,52 $\pm$ 0,64b	4,81 $\pm$ 0,22ab	8,9 $\pm$ 0,47b	5,5 $\pm$ 0,3b
<b>Coefficiente de variação</b>	28,85	18,73	22,45	11,22

a, b, c: Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey.

\***Sem jejum**: sem jejum durante o período pré-abate; **Jejum**: 12 horas de jejum sem adição de desinfetante na água (jejum); **Iodo**: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de iodo na água; **Amônia quaternária**: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de amônia quaternária na água; **Biguanida**: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de biguanida na água; **Ácido peracético**: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de ácido peracético na água.

No presente experimento, não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as aves submetidas ao jejum e aquelas alimentadas normalmente durante as 12 horas do período pré-abate em relação à quantidade de *Escherichia coli* no Inglúvio, apesar da quantidade deste microrganismo ser maior nas aves submetidas ao jejum.

Assim como ocorreu com a *E. coli*, também foi observada contaminação maior por enterococos no inglúvio nas aves submetidas ao jejum, porém neste caso apresentando diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quando se compara com as aves alimentadas normalmente durante o período de 12 horas.

O fato de terem sido encontradas quantidades significativamente maiores de enterococos no inglúvio dos frangos submetidos ao jejum pré-abate pode ter ocorrido por causa da ingestão de cama contaminada pelos frangos durante o período de jejum como tentativa de aliviar a sensação de fome, apesar do tempo de jejum utilizado no presente experimento estar de acordo com o sugerido na literatura (SMIDT; FORMICA; FRITZ, 1964; WABECK, 1972; VEERKAMP, 1986; LYON; PAPA; WILSON JUNIOR, 1991). Entretanto, a quantidade de *E. coli* no inglúvio não diferiu entre esses dois tratamentos, ou seja, o jejum pode até ter diminuído a contaminação por este microrganismo no inglúvio, mas a ingestão de fezes presentes na cama pode ter ocasionado essa falta de diferença significativa ( $P > 0,05$ ). Mesmo que a população de *E. coli* no inglúvio não tenha diferido estatisticamente nesta comparação, é importante ressaltar que a sua quantidade foi maior, aumentando assim a chance de disseminação destes microrganismos no meio ambiente, o que representa maior risco do ponto de vista da saúde pública.

É relevante destacar que quando se trata de microbiologia, a falta de diferença estatística nos resultados deve ser interpretada com cautela, uma vez que várias espécies de microrganismos necessitam de poucas UFCs (Unidades Formadoras de Colônias) para desencadearem manifestações clínicas nos consumidores. Portanto, qualquer aumento em suas quantidades deve ser tratado com atenção e cuidado. Vale lembrar também que os microrganismos avaliados neste experimento são indicadores da presença de outros patógenos que fazem parte da microbiota normal dos frangos de corte e que podem ser causadores de toxinfecções alimentares se forem carregados através da carcaça até o consumidor.

A ingestão de excretas e resíduos na cama durante o jejum já foi apontada pela literatura como fator de risco para a inocuidade do produto final, pois aumenta o potencial de contaminação das carcaças no abatedouro (RASMUSSEN; MAST, 1989; LYON; PAPA; WILSON JUNIOR, 1991). Barreiro et al. (2012) também observaram esta mesma tendência de aumento das populações de microrganismos

do ingluvío durante o jejum pré-abate avaliando as mesmas bactérias utilizadas como indicadores neste experimento (*E. coli* e enterococos) e concluíram que o jejum deve ser feito em conjunto com outros métodos que possibilitem a redução da quantidade de microrganismos no ingluvío, visando diminuir o risco de contaminação das carcaças durante o processamento no abatedouro e, conseqüentemente, o risco para a saúde pública.

Os tratamentos com adição de desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária, biguanida e ácido peracético na água de bebida não foram eficazes em reduzir a quantidade de *E. coli*, podendo até mesmo ser observado aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da contaminação por este microrganismo no ingluvío, quando se compara o resultado com o das aves que tiveram fornecimento de ração durante o período pré-abate; e apenas o tratamento com amônia quaternária apresentou aumento significativo ( $P < 0,05$ ) na quantidade de *E. coli* quando comparado ao das aves submetidas ao jejum. Em relação aos enterococos, houve diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) da quantidade desses microrganismos no ingluvío utilizando-se o desinfetante à base de biguanida associado ao jejum quando os resultados foram comparados ao tratamento envolvendo apenas o jejum pré-abate. Nos tratamentos da água com desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária e ácido peracético, observou-se aumento significativo ( $P < 0,05$ ) na população destes microrganismos, quando se comparam os tratamentos envolvendo o iodo e a amônia quaternária com aqueles das aves não submetidas ao jejum e o tratamento relacionado ao ácido peracético com as aves submetidas ao jejum pré-abate.

O aumento das quantidades de microrganismos no ingluvío nos tratamentos com adição de desinfetantes na água (exceto a biguanida em relação aos enterococos), quando comparados aos resultados das aves que ficaram com ração disponível durante o período pré-abate, pode ter sido decorrente do efeito da associação entre o jejum e o uso de desinfetantes na água de bebida. Já pôde ser observado tanto no presente experimento quanto nos resultados obtidos por Barreiro et al. (2012), que apenas o efeito isolado do jejum, sem nenhum outro tipo de tratamento, já demonstrou ter efeito sobre o aumento das populações de microrganismos do ingluvío. Porém, ainda segundo Barreiro et al. (2012), a antisepsia do ingluvío *in vivo* utilizando-se o cloro adicionado à água de bebida

durante o jejum pré-abate mostrou-se eficiente em reduzir a quantidade de microrganismos desse segmento do sistema digestório de frangos de corte. Mas no presente experimento, a adição dos desinfetantes na água associada ao jejum aumentou ainda mais a quantidade de microrganismos do ingúvio quando se compara às aves alimentadas normalmente durante o período pré-abate, com exceção da biguanida em relação aos enterococos.

Esses resultados evidenciam que os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária e ácido peracético, apesar de serem provados como eficazes em outras condições de uso indicadas pelos fabricantes, não demonstraram bons resultados para o uso na água de bebida de frangos de corte visando a antissepsia do ingúvio.

O desinfetante à base de biguanida foi o único que reduziu a população de enterococos no ingúvio de maneira significativa ( $P < 0,05$ ) quando comparado às aves submetidas apenas ao jejum. A biguanida altera a permeabilidade da membrana citoplasmática da célula bacteriana, através da adsorção com cargas iônicas negativas da superfície e age dentro da célula precipitando os constituintes citoplasmáticos e, como consequência, provocando a morte celular (CAFÉ et al., 1996; GILBERT; MOORE, 2005). As paredes celulares das bactérias Gram-positivas contêm os ácidos teicóicos, que consistem principalmente de um álcool (como o glicerol ou ribitol) e de fosfato (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Como o grupo fosfato do ácido teicóico presente nas bactérias Gram-positivas (representadas no presente experimento pelos enterococos) possui carga negativa e a biguanida liga-se às cargas negativas da membrana celular das bactérias, pode ser que o efeito deste desinfetante tenha sido potencializado por esse fato, o que explica a diminuição ( $P < 0,05$ ) da quantidade de enterococos no ingúvio de frangos expostos a este tratamento.

#### **4.2. Análise microbiológica do conteúdo cecal**

Em relação aos resultados referentes ao conteúdo cecal, a quantidade de *E. coli* aumentou significativamente ( $P < 0,05$ ) no tratamento com desinfetante à base de biguanida, quando comparada aos resultados dos frangos submetidos apenas ao jejum pré-abate. O desinfetante à base de iodo não se mostrou eficaz no controle

da quantidade de enterococos no conteúdo cecal, sendo que foi observado aumento ( $P < 0,05$ ) na população deste microrganismo tanto nos frangos submetidos ao jejum quanto nos alimentados normalmente durante o período de jejum pré-abate.

Vários fatores são capazes de influenciar a composição e a multiplicação da microbiota presente no ambiente intestinal, estando entre eles os físicos, químicos e mecânicos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). No presente experimento, a adição de desinfetantes à base de biguanida e iodo na água pode ter alterado o equilíbrio naturalmente existente entre os microrganismos que compõem a microbiota intestinal, desencadeando assim o aumento significativo ( $P < 0,05$ ) na população de *E. coli* e enterococos no conteúdo cecal.

Outra hipótese que pode ser considerada para explicar o aumento de *E. coli* e enterococos no conteúdo cecal nos tratamentos envolvendo os desinfetantes à base de biguanida e iodo, respectivamente, seria relacionada ao aumento na velocidade do fluxo da ingesta no trato gastrointestinal durante o jejum pré-abate.

Sibbald (1979) descreveu que a maior ingestão de líquidos promove maior velocidade de passagem do conteúdo alimentar presente no trato gastrointestinal, podendo carrear bactérias desses locais juntamente ao fluxo de líquido, alterando assim a microbiota naturalmente presente nesses sítios. Porém, algumas bactérias possuem fatores de virulência capazes de evitar que estas sejam carreadas pelos movimentos peristálticos e pelo fluxo do material fecal, podendo ser citados as adesinas, pilis e fímbrias (SUSSMAN, 1997). Algumas estirpes enteropatogênicas de *E. coli* tem maior capacidade de se manterem no ambiente intestinal quando comparadas a outros microrganismos, uma vez que possuem adesinas e fímbrias que permitem a sua aderência a sítios específicos dos enterócitos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Os enterococos também apresentam adesinas em sua superfície, contribuindo assim para a manutenção e multiplicação destes microrganismos no ambiente intestinal (JETT; HUYCKE; GILMORE, 1994). Quando as outras bactérias são carreadas pelo fluxo decorrente da maior velocidade de passagem do conteúdo presente no trato gastrointestinal devido à ingestão hídrica durante o período pré-abate, ocorre maior disponibilidade de sítios intestinais para adesão das bactérias que possuem mecanismos de virulência capazes de mantê-las ligadas a estes. Sendo assim, o ambiente se torna mais favorável ao

desenvolvimento de *E. coli* e enterococos do que ao de outras bactérias, sendo talvez esse o motivo da constatação de quantidades maiores dessas bactérias no conteúdo cecal dos frangos que receberam o desinfetante à base de biguanida e iodo na água, em associação com o possível desequilíbrio da microbiota intestinal que o desinfetante possa ter causado.

#### 4.3- Morfometria e microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno

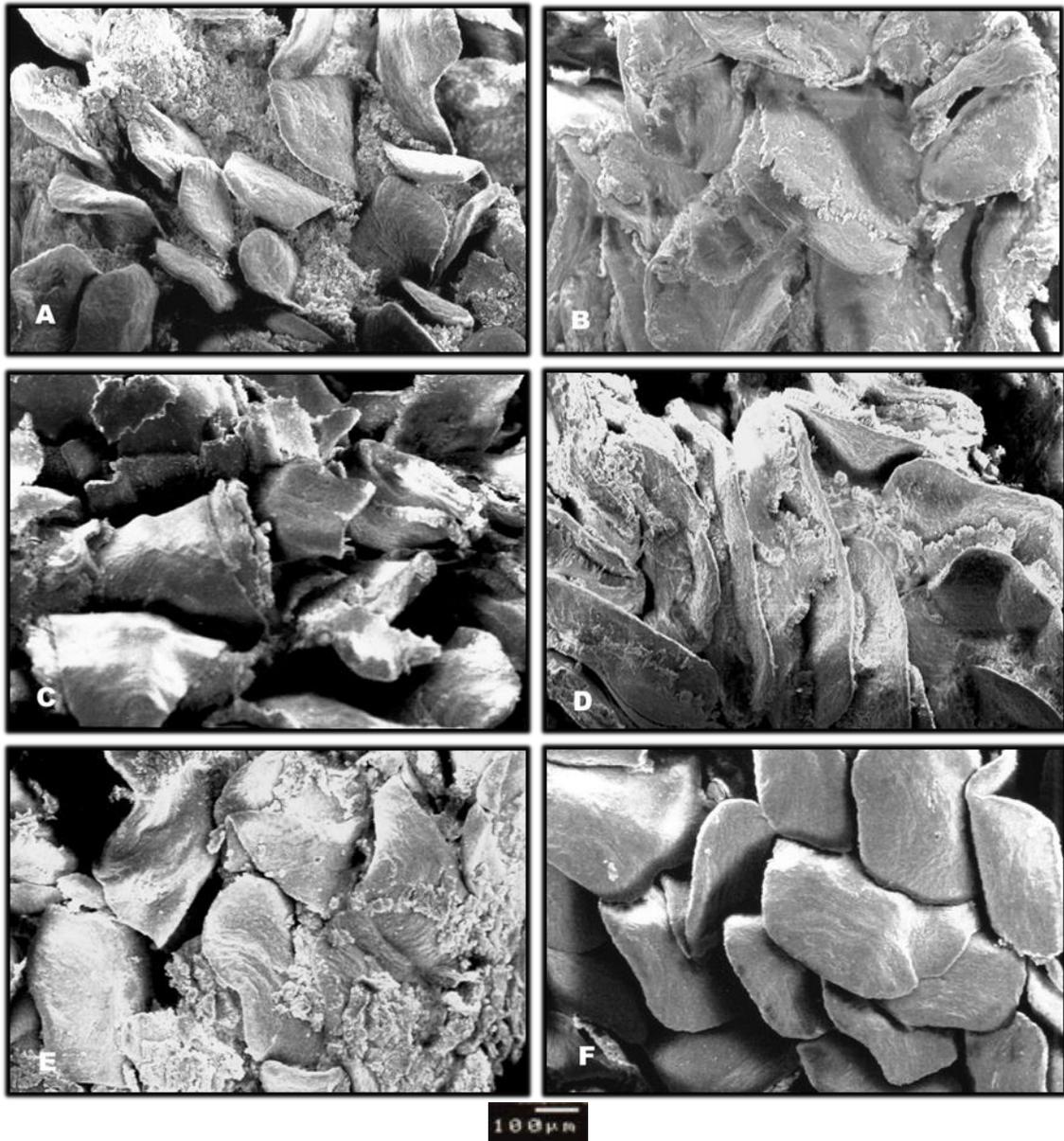
Na Tabela 2 são apresentados os valores de altura e largura dos vilos do duodeno e jejuno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos já descritos. As Figuras 2 e 3 ilustram a superfície da mucosa intestinal através das imagens de microscopia eletrônica de varredura, permitindo a visualização do efeito dos tratamentos nos vilos do duodeno (Figura 2) e jejuno (Figura 3).

**Tabela 2.** Valores médios  $\pm$  erro padrão da média referente à altura e largura (micrômetros-  $\mu\text{m}$ ) dos vilos intestinais do duodeno e jejuno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.

Tratamento*	Altura		Largura	
	Duodeno	Jejuno	Duodeno	Jejuno
<b>Sem jejum</b>	1183,41 $\pm$ 106,04a	842,86 $\pm$ 133,77a	159,73 $\pm$ 18,19a	121,25 $\pm$ 21,37a
<b>Jejum</b>	1240,67 $\pm$ 106,29a	863,46 $\pm$ 95,01a	143,29 $\pm$ 5,60a	125,16 $\pm$ 4,17a
<b>Iodo</b>	1128,47 $\pm$ 61,91a	1405,18 $\pm$ 342,36a	122,53 $\pm$ 2,85a	148,70 $\pm$ 16,73a
<b>Amônia quaternária</b>	1273,56 $\pm$ 76,25a	1251,81 $\pm$ 169,92a	131,93 $\pm$ 7,25a	144,48 $\pm$ 11,58a
<b>Biguanida</b>	1155,71 $\pm$ 115,54a	1060,83 $\pm$ 134,63a	132,67 $\pm$ 7,67a	113,52 $\pm$ 3,39a
<b>Ácido peracético</b>	1207,76 $\pm$ 102,01a	1241,22 $\pm$ 38,70a	122,96 $\pm$ 11,52a	115,57 $\pm$ 5,51a

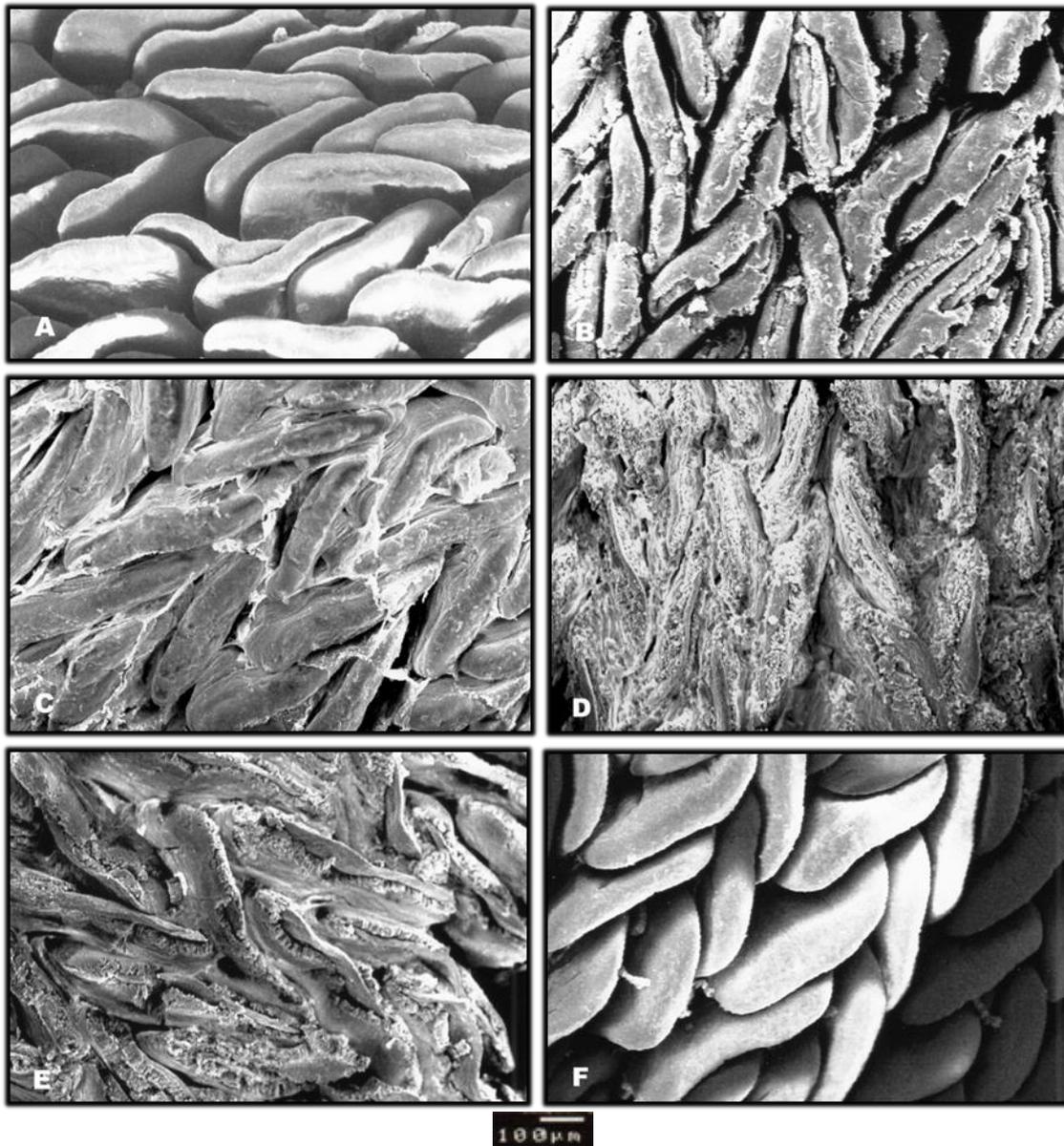
Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey.

\***Sem jejum:** sem jejum durante o período pré-abate; **Jejum:** 12 horas de jejum sem adição de desinfetante na água (jejum); **Iodo:** 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de iodo na água; **Amônia quaternária:** 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de amônia quaternária na água; **Biguanida:** 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de biguanida na água; **Ácido peracético:** 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de ácido peracético na água.



- A: sem jejum durante o período pré-abate;
- B: 12 horas de jejum sem adição de desinfetante na água;
- C: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de iodo na água;
- D: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de amônia quaternária na água;
- E: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de biguanida na água;
- F: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de ácido peracético na água.

**Figura 2.** Eletronmicrografias (15 kV x100) do duodeno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.



- A: sem jejum durante o período pré-abate;
- B: 12 horas de jejum sem adição de desinfetante na água;
- C: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de iodo na água;
- D: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de amônia quaternária na água;
- E: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de biguanida na água;
- F: 12 horas de jejum com adição de desinfetante à base de ácido peracético na água.

**Figura 3.** Eletromicrografias (15 kV x100) do jejuno de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos durante o período pré-abate.

A dinâmica da mucosa intestinal se deve a dois eventos citológicos que estão associados no controle do tamanho dos vilos: renovação celular (proliferação e diferenciação das células localizadas na cripta e ao longo dos vilos) e perda celular (extrusão, que ocorre normalmente no ápice dos vilos) (BOARO, 2009). O equilíbrio entre esses dois processos determina “turnover” (proliferação, migração e extrusão) constante de células epiteliais intestinais, os enterócitos.

Gomide Junior et al. (2004) afirmaram que a mucosa intestinal reage aos agentes exógenos por meio de modificações morfológicas dos vilos, e portanto as avaliações quantitativa e qualitativa da integridade intestinal são relevantes, pois permitem confiável avaliação da capacidade digestiva e absorptiva do intestino, como também a análise de danos à mucosa. Portanto para se avaliar a integridade e o desenvolvimento da mucosa intestinal, os principais métodos utilizados são a análise morfométrica dos vilos, que consiste na mensuração da altura e largura destes, e a microscopia eletrônica de varredura, que permite a visualização da superfície dos vilos na superfície da mucosa.

A absorção de água ocorre ao longo de todo intestino delgado, mas principalmente no duodeno e jejuno (MACARI; FURLAN; GONZALES, 1994), e por isso foram escolhidos esses segmentos intestinais para avaliação do efeito da adição de desinfetantes na água de bebida. Apesar de não ter sido encontrada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas medidas dos vilos no duodeno e jejuno, as imagens da microscopia eletrônica de varredura evidenciaram a ocorrência de alterações importantes na superfície da mucosa intestinal, comparando-se os diferentes tratamentos. Situação semelhante foi descrita por Amoroso (2009), que também não encontrou diferença significativa nas medidas dos vilos intestinais, mas observou alterações na mucosa intestinal evidenciadas pela microscopia eletrônica de varredura.

Fisiologicamente, há constante renovação e proliferação dos enterócitos para reposição das células envelhecidas ou danificadas, sendo que esses processos são consequentes das divisões mitóticas das células-tronco localizadas nas criptas intestinais (UNI; GANOT; SKLAN, 1998; APPLGATE et al., 1999). As imagens da microscopia eletrônica de varredura (Figuras 2 e 3) ilustram a extrusão no ápice dos vilos do epitélio intestinal do duodeno e jejuno (MAIORKA, 2001).

O jejum é conhecido como um fator que altera o metabolismo dos vilos intestinais (YAMAUCHI et al., 1996). O trato gastrintestinal de frangos consome de 6 a 8% de energia proveniente da dieta (SPRATT et al., 1990) e, devido a essa alta demanda energética, responde rapidamente à depleção do fornecimento de alimentos (THOMPSON; APPLGATE, 2006). No presente experimento, alterações nos vilos causadas pelo jejum (Figuras 2 e 3) podem ser observadas quando se comparam as imagens resultantes das aves submetidas ao jejum e as que tiveram ração disponível durante o período pré-abate. A ausência de alterações morfológicas no duodeno e jejuno (Tabela 2), apesar da extrusão visível (Figuras 2 e 3), indica o equilíbrio na taxa de renovação celular nesses segmentos intestinais repondo as células danificadas pelo jejum, ou seja, provavelmente o “turnover” foi constante (BOARO, 2009). Porém, como o surgimento de novas células se dá nas criptas próximas à base dos vilos, ocorre um espaço de tempo significativo entre a lesão nas células do ápice dos vilos e a reposição por novas células vindas da cripta, o que pode facilitar a passagem de agentes patogênicos naturalmente presentes no conteúdo intestinal dos frangos de corte para a corrente sanguínea, aumentando assim a probabilidade de estes alcançarem a carcaça.

Em relação aos tratamentos envolvendo a adição de desinfetantes na água de bebida dos frangos de corte, as imagens provenientes de todos os tratamentos, com exceção do ácido peracético, demonstraram alta taxa de extrusão da mucosa tanto do duodeno quanto do jejuno. Porém não é possível concluir se essa maior extrusão dos vilos foi provocada apenas pelo efeito do jejum ou se foi exclusivamente o desinfetante que causou os danos no epitélio intestinal. O que pode ser afirmado a partir dos dados obtidos é que a associação entre o jejum e os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária e biguanida não apresentaram bons resultados em relação à manutenção ou diminuição das lesões na mucosa intestinal.

O desinfetante à base de ácido peracético foi o único que ocasionou melhora notável na integridade dos vilos intestinais, diminuindo a extrusão dos enterócitos causada pelo jejum. A diminuição da extrusão na superfície intestinal é importante, pois essas microlesões podem servir como porta de entrada para os microrganismos patogênicos naturalmente presentes na microbiota intestinal caírem no sistema cardiovascular e serem disseminados para a carcaça. Esse fato é muito relevante no

tocante à saúde pública, pois o epitélio age como barreira natural contra bactérias patogênicas e substâncias tóxicas presentes na luz intestinal (CALNEK, 1972; PODOLSKY, 1993; OLIVEIRA, 1998). Northcutt, Savage e Vest (1997) observaram que o jejum aumentava a extrusão da parede intestinal e promovia maior fermentação bacteriana, indicada pela presença de gás no interior do intestino, sugerindo assim um aumento na quantidade desses microrganismos e elevando conseqüentemente o risco de difusão destes para a carcaça devido às suas maiores quantidades e extrusão aumentada da mucosa. Por isso, é importante pesquisar alternativas para promover a integridade intestinal e diminuir a probabilidade da disseminação dos microrganismos do conteúdo intestinal para a carcaça.

Os ácidos orgânicos têm sido estudados como alternativa ao uso de antimicrobianos promotores de crescimento para aves e são conhecidos por ocasionarem benefícios à mucosa intestinal (VAN IMMERSSEEL et al., 2004). O ácido peracético é um ácido orgânico caracterizado por possuir atividade mesmo na presença de matéria orgânica e apresentar baixa interferência do pH do meio, curto tempo de contato necessário para a sua ação e ausência de subprodutos tóxicos ou mutagênicos (SOUZA; DANIEL, 2005). A diminuição da extrusão da mucosa intestinal observada nas imagens do tratamento com desinfetante à base de ácido peracético (Figuras 2 e 3) pode ser devido ao fato deste ter em sua composição um ácido orgânico e também por possuir boa estabilidade na presença de matéria orgânica, mantendo assim seu efeito ao longo do trato gastrintestinal.

## 5. CONCLUSÕES

- É recomendável associar a prática do jejum pré-abate com algum método de antissepsia do inglúvio, já que apenas o jejum aumentou a quantidade dos indicadores da presença de microrganismos potencialmente patogênicos.
- Os desinfetantes à base de iodo, amônia quaternária e ácido peracético, nas concentrações utilizadas, não demonstraram bons resultados para o uso na água de bebida de frangos de corte, visando a diminuição das populações de microrganismos do inglúvio.
- O desinfetante à base de biguanida, em associação com o jejum pré-abate, foi eficiente na redução da quantidade de enterococos no inglúvio. Porém, deve-se ter cautela ao recomendar o seu uso na água de bebida de frangos de corte, já que ocorreu aumento da quantidade de *Escherichia coli* no conteúdo cecal.
- O único desinfetante que promoveu a integridade dos vilos intestinais quando associado ao jejum, foi o composto por ácido peracético, o que significa menor risco de disseminação de microrganismos patogênicos presentes no conteúdo intestinal para a carcaça.

## 6. REFERÊNCIAS

AMOROSO, L. **Respostas densitométricas, morfofisiológicas e desempenho de frangos de corte tratados com água filtrada e não filtrada**. 2009. 91 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

ANG, C. Y. W.; HAMM, D. Influence of length of feed withdrawal times on proximate composition and levels of selected vitamins and minerals in broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 64, p.1491–1493, 1985.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>a</sup>. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676 p.

APPLEGATE, T. J.; KITCHELL, M. L.; UNI, Z.; LILBURN, M. S. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poultry. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Londres, v. 124, p.371-380, 1999.

ASSAYAG JUNIOR, M. S.; PEDROSO, A. C.; FRANCO, S. G., BODZIAK, S.; SILVA, J. C. Efeito da duração do jejum pré-abate sobre peso corporal de frangos de corte aos 45 dias de idade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo , v. 42, n. 3, 2005.

BALDRY, M. G. C. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.54, p.417-23, 1982.

BARNHART, E. T.; SARLIN, L. L.; CALDWELL, D. J.; BYRD, J. A.; CORRIER, D. E., HARGIS, D. M. Evaluation of potential disinfectants for preslaughter broiler crop decontamination. **Poultry Science**, Champaign, v.78, n.1, p.32-37, 1999.

BARREIRO, F. R.; BARALDI-ARTONI, S. M.; PINTO, F. R.; BARBOSA, M. M. C.; AMARAL, L. A. Influence of chlorine added to drinking water during the preslaughter feed withdrawal on microbiology and morphology of the broiler gastrointestinal tract. **Poultry Science**, Champaign, v.91, p.2778-2784, 2012.

BARRELL, R.; BENTON, C.; BOYD, P.; CARTWRIGHT, R.; CHADA, C.; COLBOURNE, J.; COLE, S.; COLLEY, A.; DRURY, D.; GODFREE, A.; HUNTER, P.; LEE, J.; MACHRAY, P.; NICHOLS, G.; SARTORY, D.; SELLWOOD, J.; WATKINS, J. **Methods for the Examination of Waters and Associated Materials**, 2002. Disponível em: <http://www.environment-agency.gov.uk/static/documents/Research/>. Acesso em: 18/12/2011.

BERRANG, M. E.; BERRANG, M. E.; BUHR, R. J.; CASON, J. A.; DICKENS, J. A. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 64, n.12, p. 2063-2066, 2001.

BILGILI, S. F. Research note: Effect of feed and water withdrawal on shear strength of broiler gastrointestinal tract. **Poultry Science**, Champaign, v. 67, p. 845-847, 1988.

BILGILI, S. F. Slaughter quality as influenced by feed withdrawal. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 58, p. 123-130, 2002.

BLOCK, S. S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 5 ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 1481 p., 2001.

BOARDMAN, G. Food Technology in New Zealand. **ICI Pharmaceuticals**, Nova York, v. 10, p. 421-425, 1969.

BOARO, M.R.F. Morfofisiologia do Trato Intestinal. In: Conferência APINCO 2009 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, 2009. p. 262-274.

BRASIL. Portaria n. 15, de 23 de agosto de 1988. Determinar que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares anexas à presente. **Diário Oficial da União**. Brasília, Distrito Federal.

BRASIL. Portaria n. 122/DTN, de 29 de novembro de 1993. Inclui na Portaria nº 15, de 23/08/88, sub anexo 1, alínea I, o princípio ativo ácido peracético, para uso das formulações de desinfetantes/esterilizantes. **Diário Oficial da União**. Brasília, Distrito Federal.

BRASIL. Resolução nº 211/MS/ANVS, de 18 de junho de 1999. Alterar o texto do subitem 3 do item IV da Portaria 15 de 23 de agosto de 1988, que passa a ter a seguinte redação: "desinfetantes para indústrias em superfícies onde se dá o preparo, consumo e estocagem dos gêneros alimentícios, podendo utilizar, exclusivamente, os princípios ativos dos grupos C, D, E, F e H do SUBANEXO 1 e também a substância peróxido de hidrogênio". **Diário Oficial da União**. Brasília, Distrito Federal.

BYRD, J. A.; CORRIER, D. E.; HUME, M. E.; BAILEY, R. H.; STANKER, L. H.; HARGIS, B. M. Incidence of *Campylobacter* in crops of preharvest market-age broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p.1303-1305, 1998.

CAFÉ, M. B.; MESQUITA, A. J.; SILVA, K. M. B.; MOJYCA, N. S.; VIEIRA, D. Efeito do tratamento da água de bebida com biguanida polimérica (Vantocil IB) sobre o desempenho e sanidade de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 26, n.1, p. 27-36, 1996.

CALNEK, B.W. **Diseases of poultry**. 6 ed. Ames: The Iowa State University Press, 1972, 1176 p.

CORRIER, D. E.; HARGIS, B. M.; HINTON JUNIOR., A.; LINDSEY, D. ; CALDWELL, D.; MANNING, J.; DELOACH, J. R.. Effect of anaerobic cecal microflora and dietary lactose on colonization resistance of layer chicks to invasive *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases**, Kenett Square, v. 35, p. 337–343, 1990a.

CORRIER, D. E.; HINTON JUNIOR., A.; ZIPRIN, R. L.; DELOACH, J. R. Effect of dietary lactose on *Salmonella* colonization of market-age broiler chickens. **Avian Diseases**, Kenett Square, v. 34, p. 668–676, 1990b.

DELAZARI, I. Abate e processamento de carne de aves para garantia de qualidade. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.191-204.

DOMINGUEZ, P. F.; LANGONI, H. **Manejo sanitário animal**. Rio de Janeiro: EPUB, 2001. p. 210.

DUKE, G. E.; BASH, M.; NOLL, S. Optimum duration of feed and water removal prior to processing in order to reduce the potential for fecal contamination in turkeys. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n. 3 p. 516-522, 1997.

FANELLI, M. J.; SADLER, W. W.; FRANTI, C. E.; BROWNELL, J. R. Localization of salmonellae within the intestinal tract of chickens. **Avian Diseases**, Kenett Square. v 15, p. 366–395, 1971.

GILBERT; P.; MOORE, L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 99, p.703-715, 2005.

GOMIDE JUNIOR, M. L; STERZO, E. V.; MACARI, M.; BOLELI, I. C. Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Minas Gerais, v. 33, n. 6, p. 1500-1505, 2004.

GOTTARDI, W. Iodine and iodine compounds. In: BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4.ed. Philadelphia/London: Lea & Fabiger, 1991. p.152-166.

HAFEZ, H. M. Poultry meat and food safety: pre- and post-harvest approaches to reduce foodborne pathogens. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 3, p. 269-280, 1999.

HARGIS, B. M.; CALDWELL, D. J.; BREWER, R. L.; CORRIER, D. E.; DELOACH, J. R. Evaluation of the chicken crop as a source of salmonella contamination for broiler carcasses. **Poultry Science**, Champaign, v. 74, n. 9, p. 1548-1552, 1995.

HINTON, J. R.; BUHR, A. R. J.; INGRAN, K. D. Effect of feed withdrawal on bacterial flora, pH, and weights of the ceca of chickens. In: Poultry Science Association Annual Meeting, 87., 1998, Pennsylvania. **Proceedings...** Pennsylvania: Pennsylvania State University, 1998.

JETT, B. D.; HUYCKE, M. M.; GILMORE, M. S. Virulence of enterococci. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.7, n.4, p. 462-478, 1994.

LEITÃO, M. F. F. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. p.181-190.

LUDTKE, C. B. Principais problemas e soluções durante o manejo pré-abate das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2008, Santos. SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2008. p.109-128.

LYON, C. E.; PAPA, C. M.; WILSON JUNIOR, R. L. Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, p. 1020–1025, 1991.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. 296 p.

MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: Conferência APINCO 2001 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2001, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2001. p. 141-151.

MEAD, G. C. Hygiene Problems and Control of Process Contamination. In: MEAD, G.C. **Processing of Poultry**. New York: Elsevier Applied Science, 1989. p.360-368p.

MENDES, A. A. Jejum pré-abate em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 3, p.199-209, 2001.

NORTHCUTT, J. K.; SAVAGE, S. I.; VEST, L. R. Relationship between feed withdrawal and viscera condition of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 410-414, 1997.

NORTHCUTT, J. K.; BURH, R. J.; BERRANG, M. E.; FLETCHER, D. L. Effects of Replacement Finisher Feed and Length of Feed Withdrawal on Broiler Carcass Yield and Bacteria Recovery. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p.1820-1824, 2003.

OLIVEIRA, P.B. **Influência de fatores antinutricionais de alguns alimentos sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte**. 1998. 42 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1998.

PELCZAR, M. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. v. I.

PEREIRA, R. E. P. **Efeito do tempo de jejum pré-abate sobre o bem-estar, qualidade de carne de peito e integridade intestinal em frangos de corte.** 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

PODOLSKY, D.K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: a few answers, any questions. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v.2, p. 179-186, 1993.

POST, R. C. Variables in broiler production and processing in the USA which influence yields and nutrient composition of carcasses sold at retail level. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 41, n. 3, p. 240-251, 1985.

RAMIREZ, G. A.; SARLIN, L. L. ; CALDWELL, D. J. ; YEZAK JUNIOR, C. R.; HUME, M. E.; CORRIER, D. E.; DELOACH, J. R.; HARGIS, B. M. Effect of feed withdrawal on the incidence of Salmonella in the crops and ceca of market age broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.76, n.4, p. 654-656, 1997.

RASMUSSEN, A. L.; MAST, M. G. Effect of feed withdrawal on composition and quality of broiler meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 68, n. 8, p. 1109-1113, 1989.

ROMÃO, C. M. C. A. Desinfecção e esterilização química. In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. (Org). **Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar.** Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1996. p.133-162.

SIBBALD IR. Passage of feed through the adult rooster. **Poultry Science**, Champaign, v. 56, p. 446-452, 1979.

SILVA, N.; CANTUSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água.** Campinas: ITAL, 2000. 99 p.

SMIDT, M. J.; FORMICA, S. D.; FRITZ, J. C. Effect of fasting prior to slaughter on yield of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 43, p. 931-934, 1964.

SNOEYENBOS, G. H.; SOERJADI, A. S.; WEINACK, O. M. Gastrointestinal colonization by *Salmonella* and pathogenic *Escherichia coli* in monozenic and holoxenic chicks and poults. **Avian Diseases**, Kenett Square, v. 26, p. 566-575, 1982.

SOUZA, J. B.; DANIEL, L. A. comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.10, n. 2, p.111-117, 2005.

SPRATT, R. S.; MCBRIDE, B. W.; BAYLEY, H.; LEESON, S. Energy metabolism of broiler breeder hens. Contribution of tissues to total heat production in fed and fasted hens. **Poultry Science**, Champaign, v.69, p. 1348-1356, 1990.

STERN , N. J.; FEDORKA-CRAY, P; BAILEY, J. S.; COX, N. A. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S poultry production and processing operations. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 64, n. 11, p. 1705-1710, 2001.

SUSSMAN, M. ***Escherichia coli: mechanisms of virulence***. United Kingdom: Cambridge University, 1997. 639 p.

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

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2ªed. São Paulo: Manole, 2003. 331p.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. **Microbiologia**, 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 965 p.

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

VAN IMMERSEEL, F.; FIEVES, V.; BUCK, J.; PASMANS, F.; MARTEL, A.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. **Poultry Science**, Champaign, v.83, p.69-74, 2004.

VEERKAMP, C.H. Fasting and yields of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.65, n. 7, p.1299-1304, 1986.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1996. 243p.

WABECK, C. J. Feed and water withdrawal time relationship to processing yield and potential fecal contamination of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 51, p. 1119-1121, 1972.

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