

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO JEJUM E DO CLORO SOBRE A
MICROBIOLOGIA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE DURANTE O PERÍODO PRÉ-
ABATE**

Fabiana Ribeiro Barreiro
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFLUÊNCIA DO JEJUM E DO CLORO SOBRE A
MICROBIOLOGIA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE
FRANGOS DE CORTE DURANTE O PERÍODO PRÉ-ABATE**

Fabiana Ribeiro Barreiro

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral
Coorientadora: Profa. Dra. Silvana Martinez Baraldi-Artoni**

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

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2012

Barreiro, Fabiana Ribeiro
B271i Influência do jejum e do cloro sobre a microbiologia e morfometria intestinal de frangos de corte durante o período pré-abate/ Fabiana Ribeiro Barreiro. – – Jaboticabal, 2012
iv, 27 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012

Orientador: Luiz Augusto do Amaral

Banca examinadora: Edivaldo Antonio Garcia, Lizandra Amoroso

Bibliografia

1. Água. 2. Cloro. 3. Frango. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.4:636.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
– Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: arnold@cnpso.embrapa.br

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: INFLUÊNCIA DO JEJUM E DO CLORO SOBRE A MICROBIOLOGIA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DURANTE O PERÍODO PRÉ-ABATE

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 MESTRE EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. SILVANA MARTINEZ BARALDI ARTONI

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


Prof. Dr. EDIVALDO ANTONIO GARCIA

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu


Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO

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

Data da realização: 29 de fevereiro de 2012.

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, situada na cidade de Jaboticabal – SP, em janeiro de 2010, CRMV-SP nº 26657. Em março de 2010 iniciou o Programa de 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.

*“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 de 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 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, Luiz Augusto do Amaral, por me permitir conviver ao seu lado durante esse período, sempre ensinando-me o exemplo de como ser um ótimo profissional associando as inúmeras qualidades pessoais que esse excelente orientador possui. Desejaria a todas pessoas queridas que pudessem ter a oportunidade de conviver e aprender com a pessoa especial que você é, professor! Obrigada!

À minha coorientadora, 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 que tenho a absoluta certeza de que Deus está presente em todos os momentos da minha vida, sempre colocando ótimos exemplos para que eu possa me inspirar.

A todos os companheiros de laboratório e amigos que me auxiliaram na execução do experimento: Fernanda de Rezende Pinto, Mayhara Cordeiro Barbosa, Bruno Emerson Bernardes da Silva, Thaiza Rancan Ferreira da Costa, Juliana Cristina Baldin, Suzana Naomi Honda, Mayra Cristina Prado de Moraes e Argos Waa, Juan Carlos Ríos Alva, Eliéder Romanzini, Felipe Rigo Lima e Breno de Lima. Sem a ajuda de vocês, esse experimento não teria acontecido.

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

À comissão examinadora pelas suas valiosas correções e sugestões que melhoraram a qualidade do trabalho.

Às amigas Annita Morais Girardi, Viviane Carla Fortulan, Mayara Correia Peixoto, Virna Clemente, Gislaine Vieira Martins, Gabriela Milani Manzi e Marcela Simões pelo companheirismo, cumplicidade e auxílio em todos os momentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de Mestrado (Processo 2009/13622-4) e Auxílio à Pesquisa (Processo 2009/54617-3).

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

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
SUMMARY.....	iv
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
1. Objetivo geral.....	5
2. Objetivos específicos.....	6
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
1. Colheita das amostras de conteúdo cecal e ingúvio.....	7
2. Diluição das amostras	
2.1. Conteúdo cecal.....	7
2.2. Suabe do ingúvio.....	8
3. Determinação dos números mais prováveis (NMP) de <i>Escherichia coli</i> e enterococos (APHA, 2001) no conteúdo cecal e suabe do ingúvio	
3.1. NMP de <i>Escherichia coli</i>	
3.1.1. Teste presuntivo.....	8
3.1.2. Teste confirmativo.....	8
3.2. NMP de enterococos.....	9
4- Determinação da concentração de cloro residual livre.....	9
5- Colheita do duodeno e jejuno.....	10
6- Morfometria do duodeno e jejuno.....	10
7- Microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno.....	10
8- Análise estatística.....	11
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
1. Microbiologia.....	12
2. Morfometria.....	15
3. Microscopia eletrônica de varredura.....	16
V. CONCLUSÕES.....	19
VI. REFERÊNCIAS.....	20

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Números mais prováveis (NMP) de enterococos e <i>Escherichia coli</i> [y=log (x+5)] no inglúvio (NMP . mL ⁻¹ de solução de transporte do suabe) e ceco (NMP. g ⁻¹ de conteúdo cecal) de frangos de corte 12 horas antes do abate e submetidos aos tratamentos experimentais.....	12
2. Valores médios ± desvio padrão da altura e largura (micrômetros- µm) dos vilos intestinais do duodeno e jejuno de frangos de corte 12 horas antes do abate e submetidos ao jejum, jejum e adição de cloro na água de bebida e sem jejum durante o período pré abate (12 horas).....	15

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Eletronmicrografias do duodeno de frangos de corte submetidos aos tratamentos “sem jejum no início do período pré-abate” (A), “12 horas de jejum sem adição de cloro na água” (B), “12 horas de jejum com adição de cloro na água” (C) e “sem jejum durante o período pré-abate” (D).	16
2. Eletronmicrografias do jejuno de frangos de corte submetidos aos tratamentos “sem jejum no início do período pré-abate” (A), “12 horas de jejum sem adição de cloro na água” (B), “12 horas de jejum com adição de cloro na água” (C) e “sem jejum durante o período pré-abate” (D).....	17

INFLUÊNCIA DO JEJUM E DO CLORO SOBRE A MICROBIOLOGIA E MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DURANTE O PERÍODO PRÉ-ABATE

RESUMO - O objetivo desse experimento foi pesquisar a eficiência do uso de cloro na água de frangos de corte durante o período de jejum pré-abate, para a diminuição de microrganismos como *Escherichia coli* e enterococos no ingluvío e 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 avaliado se o cloro associado ao jejum causou algum dano intestinal que poderia facilitar a disseminação de microrganismos para a carcaça. Foram utilizadas 40 aves de corte da linhagem Cobb, distribuídas em boxes de acordo com o tratamento (sem jejum no início do período pré-abate, 12 horas de jejum sem adição de cloro, 12 horas de jejum com adição de cloro, sem jejum no final do período pré-abate). Foram coletadas amostras de conteúdo cecal e ingluvío, para análise microbiológica; e o duodeno e jejuno para análise morfológica, após a eutanásia de 10 aves de cada tratamento. Foi realizada a determinação dos números mais prováveis (NMP) de *Escherichia coli* e enterococos nas amostras coletadas e a mensuração da concentração de cloro residual livre na água. Também foram feitas a morfometria e a microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno. Pode-se concluir que o cloro foi eficaz na diminuição dos microrganismos no ingluvío das aves, sendo realmente necessário associar o jejum com a desinfecção do ingluvío através do cloro na água, já que o tratamento levando em consideração apenas o jejum fez com que o NMP de enterococos e *Escherichia coli* no ingluvío aumentasse, representando assim, maior risco de contaminação da carcaça durante o seu processamento no abatedouro. O cloro adicionado à água não danificou a mucosa do duodeno e jejuno, sendo importante sua adição durante o jejum pré-abate, pois melhorou a integridade da mucosa intestinal.

Palavras-Chave: água, cloro, frango, jejum pré-abate, microbiologia, microscopia

INFLUENCE OF THE FEED WITHDRAWAL AND CHLORINE ON MICROBIOLOGY AND INTESTINAL MORPHOMETRY OF BROILERS DURING THE PRE-SLAUGHTER PERIOD

SUMMARY - The objective of this experiment was to test whether the addition of chlorine to drinking water during a 12-hour 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 the chlorine caused some intestinal damage that could cause the dissemination of microorganisms to the carcass. A total of 40 Cobb male broilers were distributed in pens accord to the treatment (without feed withdrawal at the beginning of the pre-slaughter period, after feed withdrawal without chlorine additon, after feed withdrawal with chlorine additon, and without feed withdrawal after the pre-slaughter period). Samples of crop and cecal content were collected for microbiological analysis; and duodenum and jejunum for morphological analysis from 10 birds in each treatment. The Most Probable Number (MPN) of *E. coli* and Enterococci in the collected samples, the measure of the free residual chlorine in water; and the morphometry and scanning electron microscopy from duodenum e jejunum were determined. Chlorine was efficient in reducing the quantities of microorganisms in crops. Therefore, pre-slaughter feed withdrawal should be coupled with crop disinfection; because pre-slaughter feed withdrawal increases the MPNs of Enterococci and *E. coli*, presenting a higher risk for carcass contamination during slaughterhouse processing and, consequently, a higher risk for public health. The chlorine added to water did not damage the duodenum and jejunum mucosa and should be added during the pre-slaughter feed withdrawal because improved the intestinal mucosa integrity.

Keywords: water, chlorine, broiler, pre-slaughter feed withdrawal, microbiology, microscopy

I. INTRODUÇÃO

O jejum pré-abate é uma prática rotineira na indústria avícola e tem por objetivo diminuir a quantidade de conteúdo do trato gastrintestinal e, conseqüentemente, reduzir a contaminação no abatedouro e os gastos com ração, já que o alimento fornecido às aves poucas horas antes da mesma ser abatida não será transformado em carne. O assunto vem sendo estudado há muitos anos por vários pesquisadores (POST, 1985), e foi definido como tempo ótimo para reduzir a incidência de contaminação e não afetar o rendimento de carcaça, o período de oito a 12 horas sem alimento (SMIDT et al., 1964; WABECK, 1972; VEERKAMP, 1986; LYON et al., 1991).

STERN (2001) relatou que são necessárias medidas específicas de controle tanto na granja como na indústria, para se reduzir significativamente a contaminação nas carcaças. Sendo assim, devem ser estudados métodos para reduzir, durante o pré-abate, a quantidade de microrganismos potencialmente patogênicos e diminuir assim, a probabilidade de estes entrarem em contato com a superfície externa das aves e com a carcaça durante a evisceração. O sal do ácido dicloro isocianúrico pode ser uma opção válida para esse propósito, já que é aprovado para uso na indústria de alimentos (BRASIL, 1988) e pode ser adicionado à água de bebida.

II. REVISÃO DA LITERATURA

O tempo de 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 (MENDES, 2001). As aves comem a cada quatro horas, quando não estimuladas, e bebem água imediatamente após a ingestão para solubilizar o alimento presente no inglúvio (MENDES, 2001). Cerca de 75% do conteúdo intestinal é excretado em até 12 horas (DUKE et al., 1997; BILGILI, 2002), entretanto a parte do alimento presente nos cecos, aproximadamente 10 a 12%, necessita de até 72 horas para ser excretado. Nos períodos curtos de jejum alimentar, menores que seis ou sete horas, o trato digestório das aves está cheio de alimento e os intestinos apresentam-se grandes e arredondados no momento do abate, ocupando ampla quantidade de espaço na cavidade abdominal 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 ficam frágeis e a incidência do rompimento durante a evisceração tende a aumentar. Esses 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 et al., 1991).

As carcaças de frangos de corte podem ser contaminadas com o conteúdo do trato gastrintestinal durante o processamento. Quando a contaminação ocorre, estas carcaças são reprocessadas (lavadas ou aparadas), ou até mesmo condenadas (MAY et al., 1990). O reprocessamento ou condenação de carcaças atrasa as atividades do abatedouro, aumentando o custo de produção, e portanto deve-se direcionar atenção considerável para o desenvolvimento de métodos que visam reduzir a contaminação das mesmas (BENOFF, 1982; BILGILI, 1988; PAPA & DICKENS, 1989; PAPA, 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 causa importante de estresse no pré-abate. Em um lote contaminado, o estresse das aves determina aumento na eliminação de material fecal (DELAZARI, 2001) e aumenta significativamente a proporção de aves que eliminam *Salmonella* spp. nas fezes (MEAD, 1989). DELAZARI (2001) constatou que após o transporte, ocorreu elevação de dez vezes no nível de *Escherichia coli* na superfície do peito 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, uma grande quantidade do agente já está aderida e é transferida para a pele durante a retirada das penas, contaminando assim, a carcaça. Logo, pode-se afirmar que ao se falar em contaminação no abatedouro, aborda-se a presença de conteúdo intestinal tanto dentro como fora da carcaça eviscerada.

O frango de corte possui microbiota intestinal bastante diversificada. Alguns destes microrganismos são potencialmente patogênicos, mas a maioria não apresenta importância do ponto de vista de saúde pública (MEAD, 1989; HAFEZ, 1999).

Durante o jejum pré-abate, ocorre esvaziamento do trato gastrointestinal, o que provoca uma alteração no pH do conteúdo do intestino, favorecendo eventualmente a instalação e multiplicação de determinados microrganismos patogênicos em alguns segmentos do aparelho digestório. HINTON et al. (1998) observaram que ao longo do período de jejum pré-abate, o número de bactérias aeróbicas 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).

RAMIREZ et al. (1997) desafiaram frangos de corte com *Salmonella* Enteritidis e concluíram que o jejum aumenta a presença deste microrganismo no

inglúvio das aves. Tem sido reportada também (HARGIS et al., 1995) uma incidência maior de *Salmonella* spp. no inglúvio com o aumento do período de restrição alimentar. É possível que isso possa estar relacionado com a ingestão de cama pelas aves durante o jejum. HARGIS et al. (1995) afirmaram que o inglúvio apresenta-se 3,5 vezes mais contaminado com *Salmonella* spp. do que o ceco, e que rompe-se 85 vezes mais durante o processamento no abatedouro quando comparado a este.

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 *E. 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*.

O cloro é o antimicrobiano mais usado durante as várias etapas de produção de alimentos, devido a sua disponibilidade, custo relativamente baixo e alta eficácia (TSAI et al., 1992). Este produto é mais ativo na forma de ácido hipocloroso, pois este tem a capacidade de penetrar a parede celular das bactérias (LILLARD, 1980), e de reagir com algumas enzimas que interferem com o processo de respiração celular (BANWART, 1989b). A maior desvantagem do cloro é a sua capacidade de se ligar à matéria orgânica, diminuindo assim o seu efeito antimicrobiano (LILLARD,

1980; TSAI et al., 1992); por isso, deve-se adicionar uma quantidade suficiente de cloro para produzir um resíduo livre. Quando presente, este cloro livre mantém a atividade antimicrobiana por um período maior e controla a proliferação de microrganismos (GAVIN & WEDDIG, 1995).

BARNHART et al. (1999), estudando a administração de D-limonene e ácido cítrico para frangos durante o período de jejum pré-abate, obtiveram resultados que indicam a possibilidade de uso de um desinfetante adequado no período de pré-abate com objetivo de reduzir a presença de patógenos no ingluvío. Esses autores também afirmaram que devem ser feitos testes para comprovar a eficácia da desinfecção ante-mortem do ingluvío, 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.

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 fecal e aumentar a segurança alimentar para produtos derivados de frangos de corte.

1- Objetivo geral

O objetivo desse experimento foi testar a eficiência do uso de cloro na água de frangos de corte desde o início da restrição alimentar até o fim do período de jejum e início da apanha, na diminuição de microrganismos como *Escherichia coli* e enterococos no ingluvío e 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 avaliado se o cloro associado ao jejum, causou algum dano intestinal que poderia facilitar a disseminação de microrganismos para a carcaça.

2- Objetivos específicos

- Avaliar se o cloro é eficaz para diminuir os microrganismos no ingluvío e conteúdo cecal das aves durante o período de jejum pré-abate, realizando-se a determinação dos números mais prováveis (NMP) de *Escherichia coli* e enterococos nos tratamentos.
- Avaliar a integridade do duodeno e jejuno de frangos de corte através da morfometria e da microscopia eletrônica de varredura.

III. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP campus Jaboticabal nos meses de julho e agosto de 2010. Foram utilizadas 40 aves de corte da linhagem Cobb, distribuídas 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 e foram equipados, durante o período inicial, com campânulas contendo lâmpada incandescente para aquecimento dos pintinhos, 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 14^o dia contra Gumboro (reforço). Água e rações foram fornecidas *ad libitum*. Foram utilizadas rações comerciais da Purina do Brasil[®], sendo que foi fornecida ração inicial (Inicina[®]) até os 21 dias de idade e a ração de crescimento (Nutriengorda[®]) até o abate, conforme as recomendações do fabricante.

Exatamente 12 horas antes de iniciar o abate, aos 42 dias de idade no abatedouro da FCAV/UNESP Jaboticabal, foi realizada a eutanásia de 10 aves por deslocamento cervical. Posteriormente, foram coletados o conteúdo cecal e do inglúvio para análise microbiológica e amostras do duodeno e jejuno para análise morfológica. Estas mesmas análises foram repetidas ao final do período pré-abate, sendo que foram eutanasiadas mais 10 aves de cada tratamento para a coleta das amostras de conteúdo cecal, inglúvio e intestino.

Foram definidos quatro tratamentos:

- Sem jejum no início do período pré-abate (as aves foram abatidas logo antes de se começar a considerar as 12 horas que caracterizam o período pré-abate);
- 12 horas de jejum sem adição de cloro na água;
- 12 horas de jejum com adição de cloro na água;
- Sem jejum durante o período pré-abate (as aves foram mantidas recebendo ração e água normalmente durante as 12 horas do período pré-abate).

1- Coleta das amostras de conteúdo cecal e inglúvio

As amostras do conteúdo cecal foram colhidas de maneira asséptica e com material esterilizado, diretamente do ceco das aves abatidas. Para coletar as amostras da superfície interna do inglúvio foi utilizado suabe esterilizado, sendo que este foi friccionado por toda superfície interna do inglúvio das aves abatidas. Após a coleta, as amostras foram transportadas ao laboratório em caixa isotérmica contendo cubos de gelo, para processamento logo após sua chegada.

2- Diluição das amostras (APHA, 2001)

2.1- Conteúdo cecal

As amostras de 25 g do conteúdo cecal foram acondicionadas em frascos contendo 225 mL água peptonada a 1% tamponada obtendo-se assim a diluição 10⁻¹

¹. A partir dessa diluição foram realizadas diluições decimais consecutivas, utilizando-se 1 mL da diluição adicionado à 9 mL do diluente.

2.2- Suabe do inglúvio

Os suabes foram colocados em tubos de ensaio contendo 5 ml de caldo TSB. As diluições foram feitas adicionando os 5 mL da solução dos 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 soluções decimais consecutivas, utilizando-se 1 mL da diluição adicionado à 9 mL do diluente.

3- Determinação dos números mais prováveis (NMP) de *Escherichia coli* e enterococos (APHA, 2001) no conteúdo cecal e suabe do inglúvio

3.1- NMP de *Escherichia coli*

3.1.1- Teste presuntivo

A partir das diluições das amostras de conteúdo cecal e suabe do inglúvio foram inoculados com 1 mL, respectivamente, três tubos de caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durham invertido. Após a inoculação, estes tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas e considerados positivos aqueles que apresentaram multiplicação bacteriana caracterizada por turvação do meio e produção de gás.

3.1.2- Teste confirmativo

A partir de cada tubo de caldo lauril sulfato triptose com resultado positivo no teste presuntivo, foram inoculados com uma alça, tubos correspondentes contendo caldo Fluorocult[®] e tubo de Durham invertido. A incubação foi realizada a 35°C por 24 horas e considerados positivos os tubos que revelaram presença de gás e

fluorescência após se incidir luz ultravioleta (366nm). Os resultados foram obtidos por comparação dos números de tubos positivos com os dados da tabela de Hoskins, sempre considerando três diluições consecutivas a partir da maior diluição com três tubos positivos. De acordo com o número de tubos positivos e, empregando a tabela de Hoskins, foi determinado o NMP de *E.coli* por grama de conteúdo cecal e por mL da solução de transporte do suabe do Inglúvio.

3.2- NMP de enterococos

A partir das diluições das amostras de conteúdo cecal e suabe do Inglúvio foram inoculados com 1 mL, respectivamente, três tubos contendo Caldo Chromocult[®]. Após a inoculação, estes tubos foram incubados a 35°C por 24 horas e considerados positivos aqueles que apresentaram multiplicação bacteriana caracterizada por turvação do meio e coloração azul-esverdeada. Os resultados foram obtidos por comparação dos números de tubos positivos com os dados da tabela de Hoskins e foi determinado o NMP de enterococos por grama de conteúdo cecal e por mL da solução de transporte do suabe do Inglúvio.

4- Determinação da concentração de cloro residual livre

O sal do ácido dicloroisocianúrico da Hidroall do Brasil Ltda. (Aviclor choque[®]) foi utilizado na água de bebida das aves do tratamento “12 horas de jejum com adição de cloro na água”. Para determinar a concentração de cloro residual livre nas amostras de água, medida no momento da coleta foi utilizado o reagente NN Dietil Parafenileno Diamino (DPD) e colorímetro eletrônico (¹HI93710C-HANNA INSTRUMENTS), inicialmente zerado com 10 mL da amostra de água sem o reagente DPD; e a leitura foi realizada após adição do reagente na cubeta com 10 mL da amostra, homogeneizando a mistura, e procedendo-se a leitura que foi registrada em mg.L⁻¹. A quantidade de cloro residual livre na água logo após sua adição foi 52 ppm. O cloro residual livre após 12 horas foi 43 ppm.

5- Coleta do duodeno e jejuno

Amostras da região média do duodeno e jejuno foram coletadas após a eutanásia dos frangos submetidos aos diferentes tratamentos. O material foi fixado por imersão em Bouin durante 24 horas para a morfometria e em glutaraldeído a 3% para a microscopia eletrônica de varredura.

6- Morfometria do duodeno e jejuno

Após a fixação, o material coletado foi mantido em álcool etílico a 70% e submetido à desidratação, em séries crescentes de álcool. As amostras foram recortadas, diafanizadas em benzol e processadas, com o intuito de incluir o material em Paraplast. A seguir, foram realizados quatro cortes histológicos semiseriados de 7 μm 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 histológicas contendo os cortes do intestino delgado foram observadas em um fotomicroscópio binocular e realizou-se 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 descarregadas em um microcomputador e analisadas a morfometria com o auxílio do software *Image Pro Plus®*, Media Cybernetics, Brasil, versão 4.1. As características morfométricas do intestino delgado que foram avaliadas incluem a altura e a largura das vilosidades intestinais do duodeno e jejuno.

7- Microscopia eletrônica de varredura do duodeno e jejuno

Antes e após o período de 12 horas de jejum e dieta hídrica, os segmentos do intestino delgado foram coletados e acondicionados em frascos contendo solução fixadora de glutaraldeído a 3%. Posteriormente os mesmos 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 de secagem do secador de ponto crítico, 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.

8- Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos (sem jejum no início do período pré-abate, 12 horas de jejum sem adição de cloro na água, 12 horas de jejum com adição de cloro na água e sem jejum durante o período pré-abate) e 10 repetições (aves) por tratamento para a microbiologia e cinco para a morfometria. Os métodos de análise estatística foram a Análise de Variância pelo Teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 1% e a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa computacional Agroestat para as análises estatísticas.

¹HANNA INSTRUMENTS . Ion specific meters., 1997.

*Todos os caldos comerciais para cultura dos microrganismos que foram utilizados neste experimento foram fabricados pela Merck®.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Microbiologia

Os resultados referentes à microbiologia estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Números mais prováveis (NMP) de enterococos e *Escherichia coli* [$y=\log(x+5)$] no Inglúvio (NMP . mL⁻¹ de solução de transporte do suabe) e ceco (NMP. g⁻¹ de conteúdo cecal) de frangos de corte submetidos aos tratamentos experimentais.

Tratamento	Inglúvio		Ceco	
	Enterococos	<i>Escherichia coli</i>	Enterococos	<i>Escherichia coli</i>
Sem jejum no início do período pré-abate	6,00±0,34 b	9,22±2,88 ab	9,46±0,83 a	11,21±3,12 a
12 horas de jejum sem adição de cloro na água	8,12±2,67 a	11,32±3,11 a	8,36±0,43 bc	13,45±3,06 a
12 horas de jejum com adição de cloro na água	5,12±2,10 b	7,48±3,37 b	7,65±0,85 c	13,43±3,62 a
Sem jejum durante o período pré-abate	6,64±0,66 ab	8,05±0,45 ab	9,18±0,69 ab	12,62±2,65 a
F	5,29**	3,88*	13,00**	1,12 NS
P	0,004	0,0167	<0,0001	0,3529
CV	26,87	30,14	8,33	24,72

**P<0,01; *P<0,05; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

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

Foi encontrada diferença significativa ($P<0,01$) em relação à quantidade de enterococos no Inglúvio dos frangos, comparando o material coletado do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate” com aquele de frangos submetidos apenas ao tratamento “12 horas de jejum sem adição de cloro na água”, sendo os valores de enterococos das aves submetidas ao jejum maiores do que aqueles 12 horas antes do abate. Apesar do jejum ser citado na literatura como um fator importante na diminuição da contaminação do trato gastrointestinal (DUKE et al., 1997; NORTH CUTT et al., 1997), foram encontradas maiores quantidades de enterococos no Inglúvio dos frangos submetidos ao jejum do que nos outros. Esse fato pode ter ocorrido por causa da ingestão de cama pelos frangos durante o período de jejum pré-abate, apesar do tempo de jejum utilizado no presente experimento estar de acordo com o sugerido na literatura (SMIDT et al., 1964; WABECK, 1972; VEERKAMP, 1986; LYON et al., 1991). Entretanto o NMP de *Escherichia coli* no Inglúvio não diferiu entre esses dois tratamentos, ou seja, o jejum

pode até ter diminuído o número de microrganismos no inglúvio, mas a ingestão de fezes pelos frangos durante esse período na tentativa de aliviar o desconforto da sensação de fome pode ter ocasionado essa falta de diferença significativa no NMP de *E. coli*.

A velocidade de passagem do alimento pelo intestino é influenciada pelo tempo de jejum, temperatura ambiente, nível de atividade das aves e padrão de consumo antes da retirada da ração. A passagem do alimento pelo intestino é relativamente rápida em frangos e perus (HILLERMAN et al., 1953), sendo que os fluidos tem passagem mais rápida que os sólidos (SIBBALD, 1979).

Quanto ao número de enterococos no ceco, houve diferença significativa para os valores desse grupo de microrganismos ($P < 0,01$) nos frangos de corte submetidos somente ao jejum quando comparados àqueles do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate”, sendo que os maiores valores de enterococos foram encontrados no ceco de frangos que não foram submetidos ao jejum; ou seja, a dieta hídrica pré-abate diminuiu a quantidade de enterococos no ceco. Segundo SIBBALD (1979), os fluidos tem passagem mais rápida pelo intestino do que os sólidos, carreando os microrganismos presentes no conteúdo cecal. Entretanto o NMP de *Escherichia coli* não apresentou diferença significativa entre esses dois tratamentos, provavelmente por causa dos fatores de virulência que fazem com que a *E. coli* tenha maior capacidade de manter-se no ambiente intestinal, como as adesinas, pili ou fímbrias (SUSSMAN, 1997).

Apesar de os números de enterococos e *Escherichia coli* serem menores no inglúvio das aves submetidas ao jejum e cloro na água de bebida comparando-se com os frangos do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate”, essa diferença não foi significativa ($P > 0,05$) por causa da variabilidade dos dados. Porém, quando comparamos os resultados obtidos das aves submetidas ao jejum sem cloro na água com os do jejum com cloro na água podemos perceber que houve diminuição significativa ($P < 0,05$) tanto no NMP de enterococos quanto no de *E. coli* no inglúvio das aves, porque essa variação nos resultados individuais foi menor, uma vez que as aves foram submetidas ao mesmo tempo de jejum e independentemente da quantidade de cama ingerida, a contaminação do inglúvio foi

a mesma; diferente das aves que estavam sem o jejum que tinham a opção de ingerir tanto a ração, quanto a cama enquanto forrageavam. Sendo assim, pode-se inferir que o cloro foi eficaz na diminuição dos microrganismos no Inglúvio das aves e que é realmente necessário associar o jejum com a desinfecção do Inglúvio através do cloro na água, considerando-se que, no presente trabalho, o jejum fez com que o NMP de enterococos e *Escherichia coli* no Inglúvio aumentasse, representando assim, um maior risco de contaminação da carcaça durante o seu processamento no abatedouro e, conseqüentemente, maior risco para a saúde pública.

Ocorreu diferença significativa ($P < 0,01$) para o NMP de enterococos no ceco comparando os frangos do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate” com aqueles submetidos ao jejum com cloro na água, também provavelmente devido à ingestão de líquidos que tem velocidade de passagem maior que a de sólidos (SIBBALD, 1979). Não se pode afirmar que o cloro provocou essa redução significativa no NMP de enterococos no ceco porque essa mesma tendência foi observada nas aves submetidas apenas ao jejum sem adição de cloro na água.

Assim como para o ceco das aves submetidas apenas ao jejum sem adição de cloro na água, o NMP de *Escherichia coli* não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre esses dois tratamentos, provavelmente pelo mesmo motivo citados por SUSSMAN (1997) (fatores de virulência que fazem com que a *E. coli* tenha uma maior capacidade de manter-se no ambiente intestinal).

Como já era esperado, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) comparando-se as aves do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate” com as aves do tratamento “sem jejum durante o período pré-abate”. Apesar desses resultados já serem esperados, esses dados foram obtidos, pois a velocidade de passagem de alimentos, e conseqüentemente o perfil de microrganismos, são influenciados por vários fatores como a temperatura ambiente (MAY et al., 1988), diminuição da atividade das aves causada pela diminuição da quantidade de luz (SUMMERS & LEESON, 1979), entre outros.

2. Morfometria

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.

Tabela 2. Valores médios \pm desvio padrão da altura e largura (micrômetros- μm) dos vilos intestinais do duodeno e jejuno de frangos de corte 12 horas antes do abate e submetidos ao jejum, jejum e adição de cloro na água de bebida e sem jejum durante o período pré abate (12 horas).

Tratamento	Altura		Largura	
	Duodeno	Jejuno	Duodeno	Jejuno
Sem jejum no início do período pré-abate	1870,32 \pm 183,86 a	934,99 \pm 214,71 a	127,71 \pm 13,14 a	117,71 \pm 12,87 a
12 horas de jejum sem adição de cloro na água	1650,03 \pm 211,26 a	1162,35 \pm 96,69 a	117,15 \pm 11,42 a	91,22 \pm 7,51 b
12 horas de jejum com adição de cloro na água	1455,91 \pm 194,81 a	1227,11 \pm 229,16 a	108,47 \pm 13,10 a	86,65 \pm 4,79 b
Sem jejum durante o período pré-abate	1466,71 \pm 284,16 a	1027,57 \pm 154,63 a	111,47 \pm 14,26 a	105,33 \pm 12,29 a
F	12,33**		7,03**	
P	<0,0001		<0,0001	
CV	15,05		10,71	

**P<0,01; *P<0,05; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

a, b: Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Apenas foi constatada diferença significativa ($P<0,05$) para a largura dos vilos do jejuno quando comparados os tratamentos “12 horas de jejum sem adição de cloro na água” e “12 horas de jejum com adição de cloro na água” com os vilos dos frangos mantidos sem restrição alimentar. O jejum é conhecido como um fator que reduz a renovação celular e a altura dos vilos intestinais (YAMAUCHI et al., 1996). Devido à ausência de diferença significativa entre os tratamentos nos quais as aves foram mantidas em jejum, com adição de cloro em um deles; pode-se concluir que o jejum alterou o *turnover* celular, mas não é possível afirmar que o cloro influenciou na redução da largura dos vilos. O trato gastrointestinal de frangos consome de seis a 8% de energia proveniente da dieta (SPRATT et al., 1990) e, portanto, responde rapidamente à depleção do fornecimento de alimentos (THOMPSON & APPLGATE, 2006). 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 intestinal causados pelo jejum ou agentes patogênicos.

3. Microscopia eletrônica de varredura

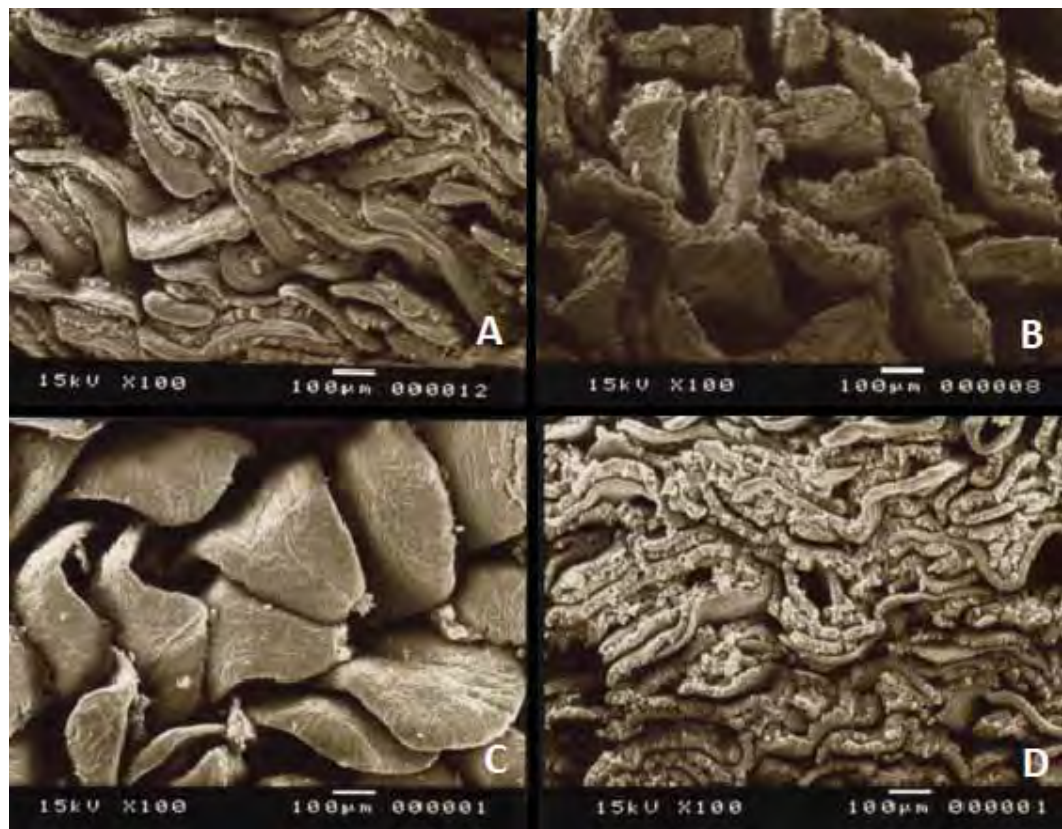


Figura 1. Eletronmicrografias do duodeno de frangos de corte submetidos aos tratamentos “sem jejum no início do período pré-abate” (A), “12 horas de jejum sem adição de cloro na água” (B), “12 horas de jejum com adição de cloro na água” (C) e “sem jejum durante o período pré-abate” (D).



Figura 2. Eletronmicrografias do jejuno de frangos de corte submetidos aos tratamentos “sem jejum no início do período pré-abate” (A), “12 horas de jejum sem adição de cloro na água” (B), “12 horas de jejum com adição de cloro na água” (C) e “sem jejum durante o período pré-abate” (D).

A absorção de água ocorre ao longo de todo intestino delgado, mas principalmente no duodeno e jejuno (MACARI et al., 1994). AMOROSO (2009) avaliou o efeito da água filtrada e não filtrada sobre a altura e a largura dos vilos dos segmentos intestinais de frangos de corte e observou que não houve diferença para essas medidas entre os tratamentos, mas houve maior taxa de extrusão de vilos nas aves que receberam água não filtrada, em função da significativa renovação celular dos vilos causada pela pior qualidade da água fornecida aos frangos.

Fisiologicamente, há constante renovação e proliferação celular, consequentes das divisões mitóticas das células-tronco localizadas nas criptas intestinais (UNI et al., 1998; APPLGATE et al., 1999). No presente experimento, apenas o jejum teve efeito nos vilos do jejuno, provavelmente porque o dano aos

enterócitos foi maior do que a taxa de renovação desses, diminuindo a largura dos vilos. As imagens da microscopia eletrônica de varredura (Figuras 1 e 2) ilustram as alterações na mucosa através da descamação no ápice dos vilos do epitélio intestinal (extrusão) (MAIORKA, 2001).

Na mucosa duodenal, também podem ser observadas alterações nos vilos causadas pelo jejum (Figura 1), apesar de não haver diferença significativa nos valores de altura e largura dos vilos desse segmento, em concordância com AMOROSO (2009). Essa ausência de alterações morfométricas no duodeno, apesar da extrusão visível, indica o equilíbrio na taxa de renovação celular nesse segmento intestinal repondo as células danificadas pelo jejum.

Nas imagens do tratamento “sem jejum no início do período pré-abate” e “sem jejum durante o período pré-abate” do duodeno (Figura 1) podem ser vistos resíduos de alimento entre as vilosidades intestinais. Já no jejuno (Figura 2), pelo fato de o alimento chegar mais líquido e sem muitas partículas nesse segmento intestinal, esses resíduos não estão presentes. O tratamento “12 horas de jejum com adição de cloro na água” apresentou maior integridade dos vilos intestinais tanto no duodeno quanto no jejuno (Figuras 1 e 2), provavelmente por causa da melhor qualidade da água fornecida aos frangos (AMOROSO, 2009) resultante da adição de cloro.

Esses dados também permitem a conclusão de que o cloro não se apresentou nocivo à mucosa intestinal, até mesmo diminuindo a descamação dos vilos; podendo evitar, assim, a disseminação de microrganismos intestinais para a carcaça. Esse fato é muito relevante no aspecto tocante à saúde pública, pois o epitélio age como uma barreira natural contra bactérias patogênicas e substâncias tóxicas presentes na luz intestinal. NORTH CUTT et al. (1997) observaram que a integridade da parede intestinal diminuía ao longo do tempo de jejum e que este promovia maior fermentação bacteriana, indicada pela presença de gás no interior do intestino, o que sugere um aumento na quantidade desses microrganismos; aumentando, assim, o risco de difusão destes para a carcaça devido às suas maiores quantidades e baixa integridade da mucosa. Distúrbios nas células epiteliais intestinais, causados pelo jejum prolongado, podem alterar a permeabilidade desta

barreira natural, facilitando a invasão de patógenos e outras substâncias nocivas que podem ser disseminadas para a carcaça e causar enfermidades nos consumidores (CALNEK, 1972; PODOLSKY, 1993; OLIVEIRA, 1998).

V. CONCLUSÕES

- O cloro adicionado na água (52 ppm) durante o período de jejum pré-abate é eficaz na diminuição dos microrganismos no inglúvio das aves, sendo realmente necessário associar o jejum com a desinfecção do inglúvio através do cloro na água, já que apenas o jejum aumentou o NMP de enterococos e *Escherichia coli* no inglúvio, representando assim, maior risco de contaminação da carcaça durante o seu processamento no abatedouro e, conseqüentemente, maior risco para a saúde pública.
- A adição de cloro à água durante o período pré-abate de 12 horas não promove danos à mucosa intestinal, favorecendo a preservação da sua integridade.

VI. 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.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4^a. 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.

BANWART, G.J. Control of microorganisms by retarding growth. In:_____ **Basic Food Microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. p. 545–650.

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.

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.

BENOFF, F. H. The “live-shrink” trap: Catch weights a must. **Broiler Industry**, Mount Morris, v. 41, n. 1, p. 56-60, 1982.

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, n. 5, 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.

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.

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.

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

CORRIER, D. E.; HARGIS, B. M.; HINTON JR., 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 JR., 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.

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, 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.

GAVIN, A.; WEDDIG, L.M. **Canned Foods: Principles of Thermal Process Control, Acidification, and Container Evaluation**. Washington: Food Processors Institute, 1995.

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.

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.

HILLERMAN, J.P.; KRATZER, F.H.; WILSON, W.D. Food passage through chickens and turkeys and some regulating factors. **Poultry Science**, Champaign, v. 32, p. 332-337, 1953.

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.

LILLARD, H.S. Effect on broiler carcasses and water of treating chiller water with chlorine or chlorine dioxide. **Poultry Science**, Champaign, v. 59, n. 8, p.1761–1766, 1980.

LYON, C.E.; PAPA, C.M.; WILSON JÚNIOR, R.L. Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v.70, n. 4, 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.

MAY, J.D.; BRANTON, S.L.; DEATON, J.W.; SIMMONS, J.D. Effect of environmental temperature and feed regimen on quantity of digestive tract contents of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 67, p. 64-71, 1988.

MAY, J. D.; LOTT, B. D.; DEATON, J.W. The effect of light and environmental temperature on broiler digestive tract contents after feed withdrawal. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 10, p.1681–1684, 1990.

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, p. 410-414, 1997.

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.

PAPA, C.M.; DICKENS, J.A. Lower gut contents and defecatory responses of broiler chickens as affected by feed withdrawal and electrical treatment at slaughter. **Poultry Science**, Champaign, v. 68, n. 11, p.1478–1484, 1989.

PAPA, C. M. Lower gut contents of broiler chickens withdrawn from feed and held in cages. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, n.2, p. 375–380, 1991.

- 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, p.1109-1113, 1989.
- 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.

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.

SUMMERS, J.D.; LEESON, S. Comparison of feed withdrawal time and passage of gut contents in broiler chickens held in crates or pens. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 59, p. 63 - 66, 1979.

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

THOMPSON, K.L; APPLGATE, 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**. São Paulo: Manole, 2003. 331 p.

TSAI, L.S.; SCHADE, J.E.; MOLYNEUX, B.T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, Champaign, v.71, n.1, p.188–196, 1992.

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.

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.