

**JOWMMOL EMERSON MIRANDA LUCENA**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E PESQUISA DE *Escherichia coli* EM FÍGADO DE  
FRANGO (*Gallus gallus*, LINNAEUS, 1758), LINHAGEM COBB 500,  
ABATIDOS EM FRIGORÍFICO INDUSTRIAL DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE RECIFE**

**RECIFE**

**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**JOWMMOL EMERSON MIRANDA LUCENA**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E PESQUISA DE *Escherichia coli* EM FÍGADO DE  
FRANGO (*Gallus gallus*, LINNAEUS, 1758), LINHAGEM COBB 500,  
ABATIDOS EM FRIGORÍFICO INDUSTRIAL DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE RECIFE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Co-Orientador:

Prof. Dr. Alessandro César Jacinto da Silva

**RECIFE**

**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E PESQUISA DE *Escherichia coli* EM FÍGADO DE**  
**FRANGO (*Gallus gallus*, LINNAEUS, 1758), LINHAGEM COBB 500,**  
**ABATIDOS EM FRIGORÍFICO INDUSTRIAL DA REGIÃO**  
**METROPOLITANA DE RECIFE**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**JOWMMOL EMERSON MIRANDA LUCENA**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. JOAQUIM EVÊNCIO NETO

Orientador – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

---

Prof. Dr. FABRÍCIO BEZERRA DE SÁ

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

---

Prof. Dr. MOACIR BEZERRA DE ANDRADE

Unidade Acadêmica de Serra Talhada – URFPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSILDA MARIA BARRETO SANTOS

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

## **Agradecimentos**

A Deus, por eu ter vida e força para alcançar os objetivos e aos amigos de luz com quem sempre pude contar, tanto nos momentos de felicidades como nos momentos difíceis, principalmente nesses;

Ao professor Dr. Joaquim Evêncio Neto, pela oportunidade de desenvolver este trabalho e pela paciência;

Ao professor e grande amigo Dr. Alessandro Jacinto, pela dedicação, paciência e ajuda tanto científica quanto amiga, as quais me deram mais força e determinação para concluir este trabalho, que sem o qual não seria possível;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, pelos ensinamentos;

Ao professor Dr. José Vitor, pela oportunidade de realizar as análises microbiológicas;

À Edna Maria, técnica do laboratório de histologia, pelos ensinamentos na área e pela grande ajuda na realização das análises histopatológicas;

À mestranda Priscila Rocha, pela ajuda na realização das análises histopatológicas e pelo incentivo;

À mestranda Renata Vaz, pela ajuda na realização das análises microbiológicas;

Ao amigo Tadeu Francisco de Oliveira, pela confiança e incentivo e por ajudar nos contatos com os fiscais agropecuários para que pudéssemos fazer as coletas;

Ao Dr. Maurício, fiscal agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, pelo acesso ao frigorífico onde realizamos as coletas;

Aos fiscais técnicos e funcionários do frigorífico, pela ajuda nas coletas;

Aos meus pais, Maria do Socorro e José Wilson, por todo o amor e confiança que em mim sempre depositaram;

Aos meus irmãos, Wilson Filho e Antonio Neto, pela força e incentivo que sempre me deram;

À minha namorada Telissa Kassar, pelo carinho, presença, compreensão e incentivo que nunca faltaram;

À minha cunhada Amanda Cardoso, que sempre estava pronta para ouvir meus acertos e lamentações;

Ao meu sobrinho João Gabriel, que apesar de ter chegado há pouco tempo, só trouxe alegrias e força;

Ao meu irmão de vida, Elton Ramos, sempre pronto com conselhos e incentivos que muito me ajudaram nessa caminhada;

Ao amigo Hugo Nascimento, com quem compartilhei os momentos bons e não muito bons durante o mestrado;

Aos meus grandes amigos, Marcus Medeiros, Renan Fagundes, Breno Menezes, Lucas Carvalho, Sandra Duarte e Luciana Guerra, que sempre estiveram ao meu lado me incentivando;

A todos do laboratório de Histologia, pelo apoio, aprendizado e conversas divertidas;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela estrutura física e científica disponibilizada durante todo o mestrado;

À FACEPE, pelo apoio financeiro;

A todos os professores e funcionários da área de anatomia, com quem pude ter boas conversas e descontrações;

As amizades feitas durante esse tempo na Rural e especialmente no Aggeu Magalhães, pelos momentos de descontração;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que conseguíssemos vencer mais essa jornada, que trouxe muitos ensinamentos que serão levados por toda a vida.

## RESUMO

Visando subsidiar o Serviço de Inspeção Federal quanto a garantia da qualidade da carne de frango e de seus subprodutos, realizou-se este trabalho para avaliar caracteres morfológicos de fígados de frango aprovados para consumo e pesquisar contaminação hepática por *Escherichia coli*. Foram coletados assepticamente 110 fígados de frango, linhagem Cobb 500, provenientes de abatedouro avícola industrial localizado na região metropolitana de Recife. Após avaliação macroscópica, onde foram considerados os parâmetros forma, tamanho, coloração, consistência, odor e presença ou não de lesões visíveis, cada amostra foi devidamente acondicionada, identificada e enviada para os Laboratórios de Histologia e de Microbiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco para proceder aos estudos histopatológicos e à pesquisa de *Escherichia coli*, respectivamente. Após os processamentos e análises das amostras, mediante metodologias específicas para cada área, observou-se que 97% do parênquima hepático é constituído de hepatócitos, 1,7% de leucócitos, 1,1% de vasos sanguíneos e 0,2% de ductos biliares; quanto a *E. coli*, 91% das amostras estavam contaminadas, denotando que os critérios adotados para aprovação e/ou condenação das carcaças, por si só, não são eficazes, haja vista, os fígados terem sido aprovados para consumo e, à análise, apresentarem integridade morfológica em 100% das amostras.

**Palavras-chave:** Fígado, frango, *Escherichia coli*, aves, inspeção sanitária.

## **ABSTRACT**

In order to subsidize the Federal Inspection Service for chicken meat and its byproducts quality assurance, the objectives of this work were to evaluate the morphology of chicken livers approved for consumption and also search for *Escherichia coli* liver contamination. Were collected aseptically, 110 chicken livers, lineage Cobb 500, from a industrial poultry slaughterhouse located in the metropolitan region of Recife. After macroscopic evaluation, where parameters such as shape, size, color, consistency, odor and presence or absence of visible lesions were considered, each sample was properly packaged, labeled and sent to the Laboratory of Histology and Microbiology at the Federal Rural University of Pernambuco to proceed to the histopathological studies and research of *Escherichia coli*, respectively. After processing and analysis of the samples with specific methods, it was observed that 97% of hepatic parenchyma consists of hepatocytes, 1.7% of leukocytes, 1.1% of blood vessels and 0.2% of bile vessels; as for the presence of *E. coli*, 91% of the samples were contaminated, indicating that the criteria used for approval and/or rejection of carcasses alone are not effective, given the livers were approved for consumption and during the analysis presented morphological integrity in 100% of the samples.

**Key words:** Liver, chicken, *Escherichia coli*, birds, sanitary inspection.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 01</b>	Valores das frequências absoluta e relativa de leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos, obtidos por morfometria de parênquima hepático (contagem total de 55000 hits, 500 por unidade) de frango de corte (Linhagem Cobb 500) .....	<b>25</b>
------------------	---	-----------

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ABEF: Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frangos

APEC: *Escherichai coli* Patogênica para aves

BHI: Brain Heart Infusion

DAEC: *Escherichia coli* que adere difusamente

DMFA: Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal

DTAs: Doenças Transmitidas por Alimentos

*E. coli*: *Escherichia coli*

EaggEC: *Escherichia coli* Enteroagregativa

EHEC: *Escherichia coli* Enterohemorrágica

EIEC: *Escherichia coli* Enteroinvasiva

EMB: Eosin Methylene Blue

EPEC: *Escherichia coli* Enteropatogênica

ETEC: *Escherichia coli* Enterotoxigênica

HE: Hematoxilina e Eosina

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NMEC: *Escherichia coli* de Minigite Neonatal

REDEC: *Escherichia coli* Enteropatogênica para coelhos

RIISPOA: Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

SIF: Serviço de Inspeção Federal

SIM: Sulfeto, Indol e Motilidade

TSI: Triple Sugar Iron / Tríplice Açucar Ferro

UFRPE: Universidade Federal Rural de Pernambuco

UPEC: *Escherichia coli* Uropatogênica

VM: Vermelho Metila

VP: Voges-Proskauer

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Considerações sobre a avicultura e o serviço de inspeção .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Aspectos anatômicos e fisiológicos do fígado .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Considerações sobre a contaminação hepática por <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Geral .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Aspectos anatômicos e fisiológicos do fígado .....</b>	<b>20</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Procedimento das amostras .....</b>	<b>21</b>
<b>4.2 Coleta das amostras .....</b>	<b>21</b>
<b>4.3 Avaliação macroscópicas das amostras .....</b>	<b>21</b>
<b>4.4 Preparo das amostras para a avaliação histopatológica .....</b>	<b>21</b>
<b>4.5 Morfometria .....</b>	<b>22</b>
<b>4.6 Isolamento e pesquisa de <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>22</b>
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>24</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>30</b>
<b>9. APÊNDICE .....</b>	<b>37</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A busca por alimentos, a forma de conservá-los e a maneira de garanti-los no futuro, sempre foram motivos de preocupação humana. Desde a fase do empirismo até o estabelecimento das pesquisas, diversas conquistas foram realizadas no sentido de viabilizar a produção de alimentos em quantidade e, sobretudo com qualidade, principalmente em relação à carne, por ser importante elemento nutricional e ainda de difícil aquisição. Em face ao crescimento populacional e às novas tendências, o homem vem modificando seus hábitos alimentares pelo consumo e produção de carnes e subprodutos de diferentes espécies animais. Contudo, devido à alta qualidade protéica e ao menor custo e tempo de produção, a carne de frango e seus subprodutos comestíveis tomaram lugar no mercado mundial, constituindo-se na melhor alternativa de consumo (MADEIRA et al., 2006; VENTURINI et al., 2007; REZENDE et al., 2008).

Neste cenário, a indústria avícola representa um dos mais importantes setores do agronegócio para o mundo, sobretudo para o Brasil, que atualmente ocupa o topo do comércio internacional de carne de frango. Para alcançar esta posição de liderança, toda a cadeia produtiva sofreu evoluções para adequar os produtos às exigências do mercado. O abate de animais passou a ter um rígido controle sanitário, a fim de garantir a qualidade dos produtos e minimizar a incidência de Doenças Transmitidas por Alimentos – DTAs, cabendo ao serviço oficial permanente de inspeção sanitária nos abatedouros avícolas, representado pelos Fiscais/Inspetores do Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e suas representações estaduais e municipais, a responsabilidade de garantir a qualidade dos produtos (PONTES, 2004; MADEIRA et al., 2006; ABEF, 2012; AVISITE, 2012).

Os fiscais agropecuários, baseados em normas federais, utilizam parâmetros físicos macroscópicos para avaliarem as carcaças, e assim, poder permitir ou condenar, parcial ou totalmente, seu consumo. Os miúdos de frango (vísceras comestíveis) – alimento acessível às diversas classes sociais, cujo consumo *per capita* cresce a cada ano – também são inspecionados, haja vista, representam importantes fontes potenciais de enfermidades transmitidas por alimentos (HERENDA et al., 1994; PONTES, 2004).

A exemplo disto, o exame do fígado reveste-se de especial importância, pois em face das suas características funcionais, nele repercutem (alterações morfológicas macroscópicas e microscópicas) cerca de 90% dos casos de problemas tóxicos e

infecciosos, além do que, sua dimensão em relação aos outros órgãos oferece melhores condições para avaliação (RANDALL e REECE, 1996; MACLACHLAN e CULLEN, 1998). A avaliação é bastante subjetiva, baseando-se no aspecto visual (cor, forma e tamanho), consistência e odor (BARCELOS, 2005).

O fígado de frango pode ser acometido por inúmeras alterações que incluem distúrbios circulatórios, toxicoses, doenças infecciosas (virais, bacterianas, parasitárias) e neoplásicas. Contudo, muitas lesões não são específicas, bem como suas causas, mas podem proporcionar importantes informações sobre a ocorrência de doenças sistêmicas (HOERR, 1996; RANDALL e REECE, 1996).

Não obstante, independentemente da origem, se por fatores biológicos ou químicos, nem todas as afecções geram alterações morfológicas no fígado, e este, devido a sua constituição química, condições de obtenção e manipulação, é passível de sofrer contaminações (JAY, 1994).

Ron (2006) relata que a contínua intensificação da produção no setor avícola tem propiciado as condições que favorecem a ocorrência e a disseminação de patógenos como a *Escherichia coli*.

Segundo Germano e Germano (2008) o consumo de frango e subprodutos tem sido apontado como causa de surto de toxinfecção alimentar, principalmente por *E. coli* (*Escherichia coli enteropatogênica* - EPEC).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Considerações sobre a avicultura e o serviço de inspeção

O Brasil iniciou sua produção avícola de forma intensiva na década de 60. A partir dessa data, muitos investimentos foram realizados nas áreas de nutrição, genética, manejo e sanidade (PATRÍCIO, 2007) de forma que, atualmente, segundo a Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária, a avicultura é apontada como a atividade mais dinâmica e de maior crescimento do setor agropecuário (JACOBSEN e FLÔRES, 2008; SEAGRI, 2012;).

De acordo com a Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frango – ABEF, desde 2004 o Brasil vem ocupando o terceiro lugar mundial em produção de frangos, o primeiro em exportação – sendo o Paraná o maior produtor e exportador brasileiro – e o quarto maior consumidor (PONTES, 2004; ALCOCER et al., 2006; ABEF, 2009; UBA, 2009).

A posição ocupada pelo Brasil, em face aos níveis elevados de produtividade alcançados, é devida aos avanços tecnológicos em toda a cadeia produtiva e, sobretudo, a destacada articulação entre os diferentes agentes que a compõe (MIELE e GIROTTO, 2006), o que permitiu à avicultura brasileira a capacidade de produzir o quilograma de carne de frango mais barato do mundo (NUNES, 2006).

Quanto ao consumo (*per capita* - de 2,3kg em 1971 para 38,9kg em 2008), também há razões para o aumento: além do fato de ser acessível, é consenso para nutricionistas, médicos e outros profissionais da saúde que a carne de frango é um alimento altamente nutritivo e mais saudável que a carne vermelha (MENDES, 2002; ABEF, 2009).

Visando a melhoria e crescimento constantes, já se iniciou o desenvolvimento do “sistema de rastreabilidade” na cadeia produtiva de carnes de aves (NAAS, 2002), pois o mesmo é pré-requisito para os sistemas de segurança alimentar, haja vista, permitir conhecer a origem dos ingredientes de um produto e os caminhos e destino desse produto final, o que vem facilitar a identificação e a segregação de lotes de produtos ou populações de animais afetados (MAIA e DINIZ, 2009).

Pelo exposto, é possível perceber que apesar dos avanços tecnológicos na avicultura, ainda há uma grande preocupação com a sanidade avícola, uma vez que

falhas neste setor podem representar prejuízos econômicos pela perda de mercados, devido a restrições sanitárias e, o mais importante, o comprometimento da saúde pública (ANTUNES, 2006).

Conforme a assertiva de França (2007), produzir alimentos seguros não constitui um diferencial de mercado, mas uma premissa fundamental. Atender aspectos relacionados à ausência de patógenos e resíduos associados à carne de frango é condição determinante para desenvolver-se no comércio nacional e ter participação no internacional.

As aves destinadas ao consumo são julgadas conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1952), atualizado pela Portaria Nº 210 de 10 de novembro de 1998 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 1998), por fiscais agropecuários que realizam a inspeção *ante mortem* e *post mortem*. A primeira constitui-se de um exame visual dos lotes destinados ao abate, bem como, da averiguação do conjunto de medidas para o processamento industrial; a segunda, o exame *post mortem*, é realizada nas linhas de inspeção, pontos na seção de abate, especificamente na calha de evisceração (BRASIL, 1998; GOMIDE et al., 2006).

São três as linhas de inspeção, A, B e C. Na linha A são realizados os exames visuais macroscópicos da cavidade celomática (tóraco-abdominal) e de alguns órgãos e estruturas contidas (odor, cor, forma e tamanho): pulmões, rins, órgãos sexuais e sacos aéreos; na Linha B são examinados o fígado, coração, moela (estômago muscular), baço, intestinos e, ovário e oviduto nas poedeiras; na terceira linha, observam-se as superfícies externas, pele e articulações. Havendo necessidade, são realizadas palpações e cortes para complementar o exame (BRASIL, 1998). Para tanto, salienta-se que para poder reconhecer alterações e proceder a avaliação correta, faz-se necessário conhecer as características morfológicas dos órgãos e estruturas examinadas nas linhas de inspeção (RANDALL e REECE, 1996).

Exames bacteriológicos, dentre outros, podem ser requisitados em caso de constatação de lesões. O laboratório deve ser utilizado como ferramenta auxiliar na prevenção, diagnóstico e no tratamento de doenças, bem como, fornecer informações epidemiológicas (ANDREATTI FILHO, 2006).

As condições observadas no exame *ante mortem*, somadas ao resultado do *post mortem*, mesmo que baseados apenas em exame macroscópicos, são geralmente o suficiente para o estabelecimento de critério de julgamento final (PRATA e FUKUDA,

2001) e para a tomada de decisão sanitária quanto ao consumo: aprovação total, aprovação com restrição ou sob condições, condenação parcial e a condenação total (BRASIL, 1952; BRASIL, 1998).

Dentre as causas que determinam a apreensão das carcaças e posterior condenação, destacam-se abscessos, aerossaculite, artrite, aspecto repugnante, caquexia, celulite, colibacilose, neoplasias, salpingite, septicemia e síndromes ascítica e hemorrágica (BRASIL, 1998; MINHARRO *et al.*, 1999; VIEIRA-PINTO *et al.*, 2003; PONTES; 2004; SILVA, 2005; GIOTTO *et al.*, 2008).

## **2.2 Aspectos anatômicos e fisiológicos do fígado**

O fígado, maior glândula (isolada) do corpo – localizado nas cavidades celômicas hepáticas, direita e esquerda, dorsal e ventral – é suspenso pelo peritônio, apresenta duas faces, parietal e visceral, e está dividido didática e funcionalmente em dois lobos, direito e esquerdo (BANKS, 1992).

O lobo direito tem formato cordiforme; é mais largo; apresenta a vesícula biliar e é atravessado pela veia cava caudal. O lobo esquerdo tem formato de prisma, é menor que o direito e sua parte caudal está dividida por uma fissura nas partes caudoventral e caudodorsal. Os lobos estão unidos na linha média, contudo, não havendo distinção na região (exceto próximo ao hilo) devido à falta de tecido conjuntivo perilobular. A face parietal do fígado está voltada para as paredes ventral e laterais do corpo, fazendo sintopia com o esterno, costelas e sacos aéreos; a face visceral apresenta várias impressões e, de forma geral, faz sintopia com esôfago, estômago glandular e muscular, baço, duodeno e jejuno, testículo direito ou com o ovário direito (McLELLAND, 1986; BENEZ, 2004; DICE *et al.*, 2004).

A vesícula biliar, divertículo do ducto biliar, é fusiforme e localizada na face visceral do lobo direito. Cada lobo é drenado por um ducto: o ducto hepatocístico se estende do lobo direito para a vesícula biliar e o ducto cístico-entérico a une ao duodeno. O ducto hepato-entérico drena o lobo esquerdo no duodeno. Os ductos biliares e os vasos sanguíneos permeiam o fígado no hilo hepático, localizado em sua fissura transversa na face visceral (McLELLAND, 1986; BENEZ, 2004; DICE *et al.*, 2004).

Sua irrigação é fornecida pelas artérias hepáticas, direita e esquerda, que são artérias colaterais dos ramos direito e esquerdo da artéria celíaca. A artéria hepática direita supre a vesícula biliar. A veia porta drena no fígado: à direita as veias pancreaticoduodenal, mesentérica cranial e mesentérica caudal; à esquerda, muito menor, drena as veias provenientes do estômago e do baço. A drenagem do fígado é realizada pelas veias hepáticas na veia cava caudal. Sua coloração varia da amarelada até castanho- escura, correspondendo ao período de incubação até a maturidade. É um órgão friável, de consistência firme-elástica e maleável. É mais caudal no macho (McLELLAND, 1986; GÜRTLER, 1987; BENEZ, 2004; DICE et al., 2004).

O fígado é recoberto por duas cápsulas, a serosa e a de Glisson. A primeira é uma membrana serosa; a segunda, mais interna, constitui uma membrana fibrosa de tecido conjuntivo denso, rico em fibras elásticas. Ao corte, observa-se o parênquima hepático (BANKS, 1992).

Apesar da diversidade funcional do fígado, basicamente, apenas dois tipos celulares estão envolvidas nos processos: a célula de Von Kupffer e o hepatócito. As células de Kupffer, membros do sistema macrofágico e responsáveis pela atividade fagocitária do fígado, revestem as regiões endoteliais dos sinusóides hepáticos e estão intimamente associadas aos hepatócitos. Os hepatócitos são células poliédricas, cujos limites são bem definidos; apresentam núcleo vesicular, centralmente posicionado e com nucléolos proeminentes, circundado por citoplasma acidófilo. Possui numerosas mitocôndrias (até 2.000), uma rede extensa de retículo endoplasmático granular e liso, e muitos ribossomos livres; lisossomos, peroxissomos, gotículas de lipídeos e glicogênio também estão presentes; o aparelho de Golgi é proeminente e a membrana citoplasmática é adjacente aos sinusóides (BANKS, 1992; GARTNER e HIATT, 2007).

Os sinusóides hepáticos formam um leito vascular intralobular, de onde o sangue é transportado para as veias centrolobulares. Também é formada uma rede anastomosada que separa as placas hepáticas umas das outras. Todos os hepatócitos têm pelo menos uma de suas superfícies justaposta ao sinusóide. Apesar da justaposição, eles são separados pelo espaço perisinusoidal ou espaço de Disse (BANKS, 1992; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Os lóbulos hepáticos, delimitados pelo tecido conjuntivo interlobular, são a unidade morfofuncional do fígado; são massas prismáticas e poligonais de tecido, formadas por placas ou lâminas de hepatócitos interdigitados entre os capilares sinusóides anastomosados (BANKS, 1992).

O estado fisiológico do organismo no momento da colheita pode alterar o aspecto do hepatócito: nos animais em jejum, os hepatócitos são pequenos, turvos e mal delineados; após refeição, hepatócitos grandes, bem delineados e preenchidos por diversas inclusões lipídicas e de glicogênio (SANTOS, 1986; BANKS, 1992).

A capacidade funcional do fígado é vasta e complexa. No embrião e no feto produz células sanguíneas e no adulto é um órgão de funções metabólicas importantes: filtração e armazenagem de sangue; metabolismo de carboidratos, proteínas, gorduras, hormônios e carotenóides (cantaxantina); formação da bile; armazenamento de vitaminas e ferro e, formação de fatores de coagulação. A armazenagem deriva da capacidade de expansão dos vasos sanguíneos e demais constituintes (BOLELI et al., 2002; BENEZ, 2004; GUYTON e HALL, 2006).

Nas aves o glicogênio corresponde a 3% do peso do fígado (BACILA, 2003; GUYTON e HALL, 2006). Segundo Gürtler (1987), aves cujo fígado foi removido, morrem em 24-36h pela queda brusca da glicemia e pelo aparecimento de substâncias tóxicas, normalmente metabolizadas pelo fígado. Assim, o órgão é especialmente importante para a manutenção da concentração normal da glicose sanguínea, removendo e armazenando (glicogênese) ou liberando-a (glicogenólise) quando necessário. Além de atuar na armazenagem do glicogênio a partir da glicose, converte galactose e frutose em glicose, e ainda sintetiza compostos químicos a partir de produtos intermediários do metabolismo do carboidrato (BENEZ, 2004).

Em relação ao metabolismo nitrogenado, além de promover a biossíntese das próprias proteínas, sintetiza a albumina do soro, protrombina, fibrinogênio,  $\alpha$  e  $\beta$ -globulinas, lipoproteínas; realiza desaminação e transaminação de aminoácidos, possibilitando o uso dos mesmos como energia ou fazendo interconversões; elimina o excesso de aminoácidos não-essenciais ou aumenta sua formação quando a ingestão é insuficiente; sintetiza a ureia, removendo a amônia dos líquidos corporais (GÜRTLER, 1987; BANKS, 1992).

Muito embora a maioria das células somáticas metabolize as gorduras, grande parte da oxidação dos ácidos graxos e da síntese do colesterol ocorre nos hepatócitos. Nestes, o metabolismo dos lipídeos é compartimentalizado, enquanto a síntese de triglicerídeos e ácidos graxos se dão no citosol (BACILA, 2003). Cerca de 80% do colesterol produzido no fígado é convertido em sais biliares secretados na bile (GUYTON e HALL, 2006).

Apesar de armazenar passivamente vitaminas, a função hepática e a secreção de bile são essenciais para a absorção das vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) no trato intestinal (BANKS, 1992). Em relação as vitaminas A e E, o fígado pode formar depósitos que suprem as necessidades por meses. Por conter expressiva quantidade de apoferritina, uma proteína que combina-se com o ferro para formar a ferritina, o fígado também é armazenador de ferro; também pode ser formado depósitos de cobre, manganês e zinco (GÜRTLER, 1987).

Através das células de Kupffer o fígado ainda consegue realizar uma de suas funções mais importantes, a de depurar o sangue que passa por seus sinusóides. Estes macrófagos eliminam agentes infecciosos potencialmente lesivos – antes que possam ter acesso a circulação sistêmica – e metabolizam e inativam diversas toxinas absorvidas e carregadas pela circulação portal. Em face as características funcionais descritas, é corrente o surgimento de hepatopatias, infecciosas inclusive, primárias ou derivadas de processos sistêmicos (MACLACHLAN e CULLEN, 1998).

### **2.3 Considerações sobre a contaminação hepática por *Escherichia coli***

Segundo Barcelos et al. (2006), a enterobactéria *Escherichia coli* está intrinsecamente associada as infecções sistêmicas com comprometimento hepático.

Quanto aos fígados saudáveis, aptos para consumo, Gomide et al. (2006) informam que a evisceração, necessária ao exame, deve ser procedida cuidadosamente para não lesionar órgãos, pois provocaria a contaminação de outros órgãos e da carcaça como um todo. Germano e Germano (2008) e Koneman et al. (2008) alertam que sorotipos altamente patógenos da *Escherichia coli* podem provocar infecções graves, choque induzido por endotoxinas e mesmo a morte em homens e animais.

A ressalva de Gomide et al. (2006) está no fato de membros da família *Enterobacteriaceae* (ex.: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*), amplamente distribuídos na natureza (solo, água e plantas), constituírem a microbiota normal do trato gastrointestinal do homem e dos animais (RON, 2006; FRANCO e LANDGRAF 2008; KONEMAN et al., 2008).

De forma geral, as enterobactérias são os microrganismos mais isolados dos processos infecciosos, representando em torno de 70 a 80% das bactérias Gram-negativas isoladas em rotina de laboratório (HIRSH e ZEE, 2003; TRABULSI e ALTERTHUM, 2005; KONEMAN et al., 2008; EINSENSTEIN e ZALEZNIK, 2009). Caracteristicamente, são mesófilos típicos capazes de desenvolver-se entre 7 - 42°C (temperatura ótima de 37°C), não apresentam termorresistência, sendo destruídos a 60°C em poucos segundos e podem resistir por muito tempo em temperaturas de refrigeração; são bactérias esporogênicas; fermentam a glicose e outros açúcares; são oxidase negativa e catalase positiva; anaeróbios facultativos; crescem bem em ágar MacConkey; reduzem nitrato a nitrito; e em algumas espécies como a *Escherichia coli*, fermentam a lactose. A família contém 28 gêneros e 80 espécies que podem infectar uma variedade de hospedeiros, tornando-os portadores ou gerando afecções (QUINN et al., 2005; GERMANO e GERMANO, 2008). O gênero *Escherichia* compreende as espécies *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* e *E. vulneris*. No entanto, a única espécie de importância prática é a *E. coli*, com aproximadamente mil tipos antigênicos (CAMPOS e TRABULSI, 2002).

A *Escherichia coli* foi descrita inicialmente em 1885 por Theodor von Escherich e denominada de *Bacterium coli commune*, por ser encontrada no cólon e muito comum (BERCHIERI JUNIOR, 2000). Frequentemente é fimbriada; produz colônias de cor rosáceas em ágar MacConkey; positiva para os testes de produção de indol e vermelho de metila; negativa para os testes de Voges-Proskauer e de utilização de citrato; algumas linhagens são hemolíticas e não produzem H<sub>2</sub>S em ágar triplice açúcar ferro (TSI). Para sorotipagens são utilizados os antígenos somáticos (O – lipopolissacarídicos), flagelar (H – proteico) e capsular (K – polissacarídicos). Outro antígeno, o fimbrial (F), age como adesinas, que facilitam a aderência às superfícies mucosas (QUINN et al., 2005).

Os fatores de virulência das linhagens patogênicas de *Escherichia coli* incluem as enterotoxinas, sideróforos, a toxina shiga-símile (verotoxina), fator citotóxico necrosante e hemolisina. Em relação à aviária, destacam-se as adesinas e os sideróforos (FERREIRA e KNOBL, 2000; HIRSH e ZEE, 2003). Com base nisso, são reconhecidos nove grupos de *Escherichia coli* virulentos: *E. coli* enteroagregativa (EaggEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* que adere difusamente (DAEC), *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* de meningite neonatal

(NMEC), *E. coli* patogênica para aves (APEC) e *E. coli* enteropatogênica para coelhos (REDEC) (FERREIRA e KNOBL, 2000; LEITE, 2001; KAPER, 2005).

O termo colibacilose aviária refere-se a qualquer infecção, localizada ou sistêmica, causada pela APEC (BARNES et al., 2003). Geralmente é caracterizada por quadros de pneumonia, peritonite, coliseptemia, celulite, pleuropneumonia, perihepatite, pericardite, salpingite, panoflalmia, osteomielite/sinusite, coligranuloma, síndrome de cabeça inchada e doença crônica respiratória (BERCHIERI JUNIOR, 2000; BARNES, VAILLANCOURT e GROSS, 2008). Aparece, frequentemente, associada a *Mycoplasma* sp, ao vírus da bronquite infecciosa, doença de Newcastle além das doenças imunossupressoras (LEITE, 2001).

Sendo uma das principais doenças da avicultura industrial moderna, o controle da *Escherichia coli* representa um dos maiores desafios para o setor avícola.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Análise morfológica e pesquisa de *Escherichia coli* em fígado de frango abatidos em frigorífico industrial da região metropolitana de Recife

#### **3.2 Específicos**

Subsidiar o Serviço de Inspeção Federal quanto à garantia da qualidade da carne de frango e de seus subprodutos e avaliar caracteres morfológicos de fígados de frango aprovados para consumo e pesquisar contaminação hepática por *E. coli*.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Procedência das amostras**

As amostras foram coletadas em matadouro avícola – sob Sistema de Inspeção Federal (SIF) – localizado na Região Metropolitana do Recife, durante onze visitas no período de agosto a outubro de 2012.

### **4.2 Coleta das amostras**

Cada amostra representa uma unidade de fígado. Com auxílio do Fiscal Agropecuário e utilizando lâminas de bisturi, foram coletados assepticamente 110 fígados (10 unidades por visita) julgados aptos para consumo. Cada amostra foi seccionada ao meio, gerando dois fragmentos para dois protocolos de acondicionamento: refrigeração e fixação. No primeiro, cada fragmento foi acondicionado em recipiente plástico estéril, devidamente identificado, refrigerado e em seguida, enviado ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); no segundo, cada fragmento foi acondicionado em recipiente plástico contendo solução tamponada de formaldeído a 10% e enviada ao Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia (DMFA) da mesma universidade.

### **4.3 Avaliação macroscópica das amostras**

Os parâmetros utilizados para o exame macroscópico e sua descrição foram: forma, coloração, tamanho, consistência, odor e a presença ou não de lesões visíveis. Para facilitar o registro e a análise dos dados, elaborou-se uma ficha de avaliação macroscópica (Apêndice A). As etapas foram acompanhadas de registro fotográfico.

### **4.4 Preparo das amostras para a avaliação histopatológica**

As amostras fixadas foram fragmentadas para obterem-se fragmentos menores. As peças foram processadas para inclusão em parafina segundo a metodologia preconizada por Masson (1956). Os blocos foram cortados em micrótomo tipo Minot (Leica RM 2125 RT) ajustado para 5  $\mu\text{m}$  e os cortes obtidos (três por amostra) foram corados pela hematoxilina e eosina (H.E). Para a análise morfológica e fotomicrografias utilizou-se um microscópio trinocular NIKON E50i, com câmera de vídeo SAMSUNG de alta sensibilidade, acoplado a computador com sistema de captura e análise de imagem microscópica (Software Analisador de Imagem – IMAGELAB – VD 480).

#### **4.5 Morfometria das amostras**

Para a análise morfométrica, foi utilizada a metodologia desenvolvida por Glagolef (1933) e modificada por Chalkley (1943), Chalkley (1949), Weibel et al. (1966) e Dias et al. (1975). Para o cálculo de relação porcentual entre os leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos, foi utilizada uma técnica histomorfométrica, com auxílio de uma lente ocular integradora de 25 “hits” (Kpl-W 10X) adaptada a um microscópio de luz com objetiva de 40X. O “hit” é definido como a interseção de duas linhas perpendiculares projetadas sobre a imagem da lâmina, o qual assinala uma determinada estrutura. Pelo sistema de varredura horizontal, foram contados 20 campos para cada amostra de animal, número suficiente para se obter um erro absoluto menor que 1% (DIAS, et al., 1975). A análise foi realizada em todas as amostras, sendo registrados 500 hits por amostra, 5000 por grupo de coleta, num total de 55000 hits.

#### **4.6 Isolamento e pesquisa de *Escherichia coli***

Para pesquisar-se a contaminação hepática por *Escherichia coli* adotou-se a metodologia de Silva et al, (2007): cada amostra refrigerada foi macerada e dela retirada 1 g para ser semeado em 9 ml (diluição  $10^{-1}$ ) de caldo BHI (Brain Heart Infusion) – infusão de cérebro coração e incubado por 24 h a 37°C. Em seguida procedeu-se a semeadura em agar EMB (Eosin Methylene Blue) e incubou-se por 24 h a 37°C, a fim de isolar colônias típicas (negro-azuladas com reflexo verde metalizado). Posteriormente, as colônias típicas foram repicadas em tubos com BHI inclinado e

submetidas aos meios/testes bioquímicos para identificação da *Escherichia coli*: meio TSI (Triple Sugar Iron), meio SIM (Sulfeto, Indol, Motilidade), meio base urease; meio VM – VP (prova de Vermelho de Metila – VM e prova de Voges-Proskauer – VP) e meio citrato. Após incubação, foram considerados como *E. coli* os cultivos que apresentaram as seguintes características: TSI (pico ácido/fundo básico), sulfeto de hidrogênio negativo, glicose positiva com presença de gás no tubo de Durham, indol positiva, motilidade positiva, VM positiva, VP negativa e citrato negativa (SILVA et al., 2007).

## 5. RESULTADOS

À análise macroscópica, 100% das amostras estavam íntegras externamente e internamente.

A *Escherichia coli* foi isolada em 91% das amostras (100/110).

Os dados sobre a frequência de leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos no parênquima hepático estão descrito na Tabela 1, assim como, na Figura 1.

TABELA 1 – Valores médios\* de leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos, obtidos por estudo morfométrico de parênquima hepático (contagem total de 55.000 hits, 500 por unidade) em frango de corte (Linhagem Cobb 500).

Amostra** /Medidas de dispersão	Leucócitos	Ductos Biliares	Vasos sanguíneos	Hepatócitos
01	6,3	0,9	1,7	491,1
02	8,1	0,5	3,8	487,6
03	11,1	0,3	5,6	483,0
04	10,2	0,7	5,4	483,7
05	10,7	0,9	6,2	482,1
06	9,9	0,5	5,9	483,7
07	13,3	0,9	6,1	479,7
08	6,1	1,0	5,3	487,6
09	5,1	0,7	7,5	486,7
10	7,1	1,6	6,2	485,1
11	5,3	0,9	5,9	488,2
<b>T</b>	93,2	8,9	59,6	5338,5
<b>X</b>	8,47	0,81	5,42	485,32
<b>DP</b>	7,40	0,12	2,29	10,66
<b>CV%</b>	32,0	42,25	27,97	0,67

\*\*média por agrupamento de 10 unidades fígado;

\*Representada pelo total de fígados em 11 coletas;

T= somatório das médias; X = Média aritmética das médias; DP = Desvio Padrão das variáveis pesquisadas e CV% = Coeficiente de Variação.

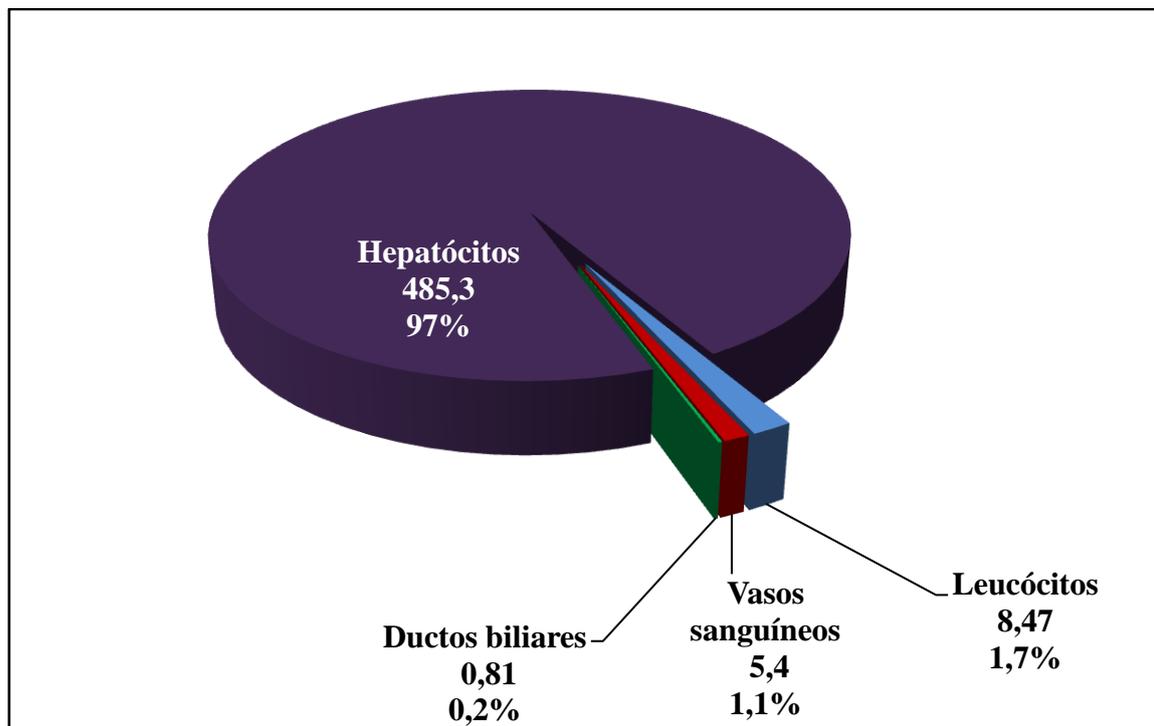


FIGURA 1 – Valores das frequências absoluta e relativa de leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos, obtidos por morfometria de parênquima hepático (contagem total de 55000 hits, 500 por unidade) de frango de corte (Linhagem Cobb 500).

## 6. DISCUSSÃO

Os critérios de avaliação dos fígados de aves estabelecidos pela Portaria n° 210 do MAPA de 10 de novembro de 1998, determinam que sejam avaliados a coloração, forma, tamanho, consistência e o odor no exame *post mortem* na linha B (BRASIL, 1998). Neste trabalho, como os fígados supostamente estavam sem lesões e haviam sido aprovados para consumo por fiscal agropecuário, priorizou-se o exame da coloração e da consistência para percepção de possíveis alterações hepáticas, assim como realizado por Barcelos (2005).

Ao examinar-se a configuração anatômica externa e a coloração dos fígados, constatou-se a integridade de todos os constituintes morfológicos (cápsula, lobos hepáticos, faces e bordas) em 100% das amostras, assim como, durante a palpação e ao corte, parênquimas sem alterações, típicos e firme-elásticos. Todos apresentaram coloração marrom-escuro (castanho-escuro), tonalidade esperada para fígados hígidos (DYCE et al., 2004).

Histologicamente não foram observadas quaisquer alterações morfológicas. Barcelos (2005) pesquisou alterações macroscópicas e microscópicas em 100 fígados, 10 dos quais considerados sem alterações morfológicas pelo serviço de inspeção, e também não encontrou lesões macroscópicas e microscópicas nos considerados aptos para o consumo.

Quanto a análise morfométrica do parênquima hepático, em relação aos leucócitos, ductos biliares, vasos sanguíneos e hepatócitos, observou-se que em um universo de 55.000 hits contados, 53.385 foram de hepatócitos, 932 de leucócitos, 594 vasos sanguíneos e 89 de ductos biliares, representando uma frequência relativa de 97%, 1,7%, 1,1% e 0,2%, respectivamente. Conforme as informações de Gürtler (1987), Banks (1992), Boleli et al. (2002), Benez (2004), Dice et al. (2004), Junqueira e Carneiro (2004) e Guyton e Hall (2006), o fígado é responsável por diversas e complexas funções metabólicas e o hepatócito é principal componente celular envolvido nos processos, assim, mesmo não encontrando dados morfométricos na literatura sobre o percentual dos caracteres observados para poder discutir os percentuais obtidos, é possível afirmar-se que a frequência relativa observada é coerente.

Como o coeficiente de variação foi muito alto (acima de 50% - vide Tabela 1) para os leucócitos, ductos biliares e vasos sanguíneos, não é seguro afirmar que as

frequências absoluta e relativa, representem o padrão histomorfológico do fígado. Todavia o observado para os hepatócitos sim, pois está muito próximo de zero.

A figura 1 ilustra as médias e os percentuais dos constituintes morfológicos contados. Na Figura 1 as médias e os percentuais demonstrados representam a amostragem (110 fígados). Quando observado por grupo de coleta, os dados tornam-se mais homogêneos e o coeficiente de variação diminui, ainda sim, como os grupos não representam tratamentos diferenciados na pesquisa, excetuando os obtidos para hepatócitos, os dados obtidos por grupo não são representativos para o padrão morfológico.

Acredita-se que o pequeno percentual de leucócitos esteja em consonância com a ausência de alterações morfológicas. Não obstante, a *Escherichia coli* foi isolada em 91% das amostras (100/110), sugerindo contaminação.

A contínua intensificação da produção no setor avícola propicia condições que favorecem a ocorrência e a disseminação de patógenos, como a *Escherichia coli*, cujo agente etiológico possui amplo espectro de infecções invasivas nas espécies humana e de animais e se constitui um dos integrantes da microbiota intestinal de mamíferos e aves (RON, 2006).

Embora os relatos afirmem que o ambiente dos matadouros avícolas permite a instalação e a proliferação de *Escherichia coli*, poucos trabalhos têm sido desenvolvidos para esclarecer quais alterações anátomo-histopatológicas estão associadas à contaminação por esses micro-organismos. Segundo Barcelos et al, (2006) ao se considerar como único critério as alterações macroscópicas do fígado no momento da inspeção para aprovação ou descarte, não há certeza se frangos contaminados por enterobactérias são descartados.

Silva (2009) pesquisando a contaminação por *Escherichia coli* em fígados de frango provenientes de matadouro avícola do Recôncavo baiano, isolou a bactéria em 43,5% dos fígados coletados (27/62), sendo que destes, 18 amostras (18/30) foram considerados com aspecto macroscópico inalterado, representando 60%. As demais amostras com isolamento de *Escherichia coli* (9/32) representam 28% do total de descartados. Todavia, diferentemente da pesquisa em questão, Silva (2009) encontrou à microscopia, alterações morfológicas características de processos inflamatórios: colangio-hepatite (16/27), pericolangite (7/27) e hepatite (2/27). Através dos referidos dados a autora afirmou que os critérios de condenação das carcaças utilizados foram

inadequados, haja vista o índice elevado de isolamentos de *Escherichia coli* em fígados de frangos que foram liberados para consumo.

Lembrando que a condenação de órgãos, vísceras e carcaças de animais destinados ao abate pelo serviço de inspeção veterinário é importante para a saúde pública, pois muitas das alterações patológicas são devidas a zoonoses. Portanto, tal prática tem o objetivo de tornar seguro o consumo humano dos alimentos inspecionados (HERENDA et al., 1994).

Barcelos (2005) em estudo no Rio Grande do Sul isolou *Escherichia coli* em 20% das amostras (2/10) consideradas supostamente sem alteração e em 31% (21/68) das amostras com lesões microscópicas sugestivas de infecção bacteriana. Como as lesões encontradas não são específicas para a *Escherichia coli*, também há a possibilidade de ter ocorrido contaminação. De forma geral, o autor pôde concluir que os critérios de condenação de fígados de frango utilizados pelo SIF foram corretos e eficientes, por descartar “aqueles com potencial risco” de transmissão de enfermidades.

De acordo com Freitas (1999) e Alberton (2000), uma grande dificuldade enfrentada pelos inspetores oficiais em estabelecimentos de abate tem sido relacionada à segurança em diagnosticar as diversas enfermidades e, em seguida, estabelecer o destino apropriado e confiável para as carcaças e vísceras desses animais. Muitas vezes a falta de acurácia na linha de inspeção tem elevado os custos de produção dos frigoríficos, bem como, acredita-se que também tenha proporcionado o aumento do número de problemas de saúde pública.

Por fim, o fato de ter-se obtido números maiores de isolamento da bactéria em relação aos outros trabalhos deve ser ponderado em relação à ocorrência de contaminação e/ou infecção, pois segundo Fisher et al. (1998), a *Escherichia coli*, por septicemia, pode ser detectada em órgãos viscerais antes do surgimento das lesões. O autor sugere que não há uma relação linear entre o lapso de tempo de infecção transcorrido e os isolamentos bacterianos.

Nesta mesma perspectiva, Seyed et al. (1997) citam que o número de *Escherichia coli* que coloniza o fígado de frango em casos de septicemia parece não depender do tempo transcorrido após a infecção, não havendo portanto, nesses fígados, como determinar quando ocorreu a infecção, uma vez que as aves foram encaminhadas para o abate, cumprindo-se o cronograma do mesmo e eram supostamente saudáveis.

## 7. CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentados e com as condições estabelecidas no trabalho, pode-se concluir que:

Não é possível detectar o momento de contaminação e ou infecção da *Escherichia coli*, se na granja ou se por manipulação inadequada ou uso de equipamentos e utensílios contaminados no abatedouro.

Fígados aprovados para consumo humano pelo Sistema de Inspeção Federal podem não ser hígidos.

Supõe-se que fígados sem lesões, provenientes de aves doentes ou de aves saudáveis, mas contaminados, estejam sendo comercializados.

Se faz necessária a adoção de medidas preventivas nos abatedouros avícolas, que incluam necropsias e análises microbiológicas e sorológicas em amostras rejeitadas e em amostras consideradas sadias, para permitir diagnósticos mais precisos e seguros, e fornecer informações epidemiológicas para avicultores e órgãos que trabalham com sanidade animal e higiene na produção de alimentos.

## 8. REFERÊNCIAS

ABEF. Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frangos. Apresenta informações sobre a avicultura do Brasil e sobre a entidade. Disponível em: [www.abef.com.br/site1/anuario/2009/revista\\_digital/Pro-pro%20Version/Main.php](http://www.abef.com.br/site1/anuario/2009/revista_digital/Pro-pro%20Version/Main.php).

Acesso em: 18 set. 2012.

ABEF. Associação Brasileira de Produtores e Exportadores de Frangos. Apresenta informações sobre a avicultura do Brasil e sobre a entidade. Disponível em: [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br). Acesso em: 20 set. 2012.

ALBERTON, G.C. **Estudo anatomopatológico, microbiológico, citológico e físico das articulações com artrite no abatedouro**. 2000. 81f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ALCOCER, F.; OLIVEIRA, K.M.P.; VIDOTTO, M.C.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Discriminação dos sorovares de *Salmonella* spp. isolados de carcaças REP e ERIC-PCR e fagotipagem do sorovar Enteretidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, 2006.

ANDREATTI FILHO, T.L. **Saúde Aviária e Doenças**. São Paulo: Roca, 2006, 314p.

AVISITE. Disponível em: [www.avisite.com.br](http://www.avisite.com.br). Acesso em: 20 set. 2012.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003. 583p.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992.

BARCELOS, A.S. **Avaliação macroscópica, histopatológica e bacteriológica de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados pelo abate pela inspeção sanitária**. 2005. 69p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BARCELOS, A.S.; FLÔRES, M.L.; KOMMERS, G.D.; NASCIMENTO, V.P.; SEGABINAZI, S.D.; ANTONIAZZI, T.; BASSAN, J.D.L. Macroscopia, histopatologia e bacteriologia de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados no abate. **Ciência Rural**, v. 36, n. 2, p. 561-567, 2006.

- BENEZ, S.M. Aves: criação, clínica, teoria e prática: silvestres, ornamentais, avinhados. 4. Ed. Ribeirão Preto, SP: Tecmed, 2004. 600p.
- BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. 505p.
- BARNES, H.J.; VAILLANCOURT, J.P.; GROSS, W.B. Colibacillosis. In: SAIF, Y.M. **Diseases of Poultry**. 11 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, 2003, p. 631-656.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Edit). **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002, p. 75-95.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30,691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 7 jul. 1952. Disponível em: [extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consultarLegislacao.do](http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consultarLegislacao.do). Acesso em: 20 nov. 2012.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiénico-Sanitária de Carnes de Aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 26 nov. 1998.
- CAMPOS, L.C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L.R. et. al. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 215-228.
- DICE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
- EISENSTEIN, B.I.; ZALEZNIK, D.F. **Enterobacteriaceae**. In: MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7. ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2009. P. 2294-2310.
- FERREIRA, A.J.O.; KNOBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000, p. 197-207.
- FISHER, M.E. *et al.* Post mortem detection of acute septicemia in broilers. **Avian diseases**, n.42, p.452-461, 1998.

FRANÇA, J.M. A competitividade da avicultura de corte e a certificação de qualidade para o mercado externo. **Revista Avicultura Industrial**, n. 1, p. 20-25, 2007.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FREITAS, M.R. **Caracterização anatomopatológica de bursites cervicais de bovinos abatidos sob Inspeção Federal no estado de Goiás**. 1999. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de Histologia em Cores**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2007. 576p.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 3. ed. Barueri: manole, 2008. 986p.

GIOTTO, D.B.; ZIMERMANN, C.F.; CESCO, M.A.O.; BORGES FORTES, F.B.; PINHEIRO, D.; HILLER, C.C.; HERPICH, J.; MEDINA, M.; RODRIGUES, E.; SALLE, C.T.P. Impacto econômico de condenações *post mortem* de frangos de corte em um matadouro-frigorífico na região sul do Brasil, in: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 35., 2008, Gramado. Anais eletrônicos... Gramado: CONBRAVET, 2008. Disponível em: [www.rovers.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0701-2.pdf](http://www.rovers.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0701-2.pdf). Acesso em: 15 out. 2012.

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Tecnologia de Abate e Tipificação de Carcaças**. Viçosa: Ed. Viçosa, 2006, 370p.

GÜRTLER, H. **Fisiologia Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 612p.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Trad. MARTINS, B.A., 11. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1115p.

HERENDA, D. et al. **Manual on meat inspection for developing countries**. Roma, Itália: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. 357p.

HIRSH, C.H.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 446p.

HOERR, F.J. Liver. In: RIDELL, C. **Avian Histopatology**. Pensilvânia: Library of Congress, 1996. p. 143-166.

JAY, J.M. **Microbiologia Moderna de los Alimentos**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1994, 804p.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histopatologia Básica – Texto/Atlas**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.

KAPER, J.B. Pathogenic *Escherichia coli*. **International Journal of Medical microbiology**, v. 295, p. 355-356, 2005.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1760p.

LEITE, C.R.C. **Desinfecção química aplicada na avicultura: concentrações inibitórias mínimas de desinfetantes derivados da amônia quaternária e hipoclorito de sódio sobre *Salmonella* sp. e *Escherichia coli***. Dissertação (mestrado). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. 103p. 2001.

MACLACHLAN, N.J.; CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: THOMSON, R.G. **Patologia Veterinária Especial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. p. 265-298.

MADEIRA, L.A.; SARTORI, J.R.; SALDANHA, E.S.P.B.; PIZZOLANTE, C.C.; SILVA, M.D.P.; MENDES, A.A.M.; TAKAHASHI, S.E.; SOLARTE, W.V.N. Morfologia das fibras musculares esqueléticas de frangos de corte de diferentes linhagens criados em sistemas de confinamento e semiconfinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2322-2332, 2006.

MAIA, A.P.A.; DINIZ, L.L. Segurança alimentar e sistemas de gestão de qualidade na cadeia produtiva de frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 991-1000, 2009.

McLELLAND, J. Sistema digestivo das aves. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman Anatomia dos Animais Domésticos**. Vol. 2. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. Cap. 63, p. 1740-1765.

MENDES, A.A. Saudável e Nutritivo. **Revista Avicultura Industrial**, n. 5, p. 57-58, 2002.

MIELE, M.; GIROTTO, A. F. **Tendências e incertezas para a construção de cenários na suinocultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006. 6p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 424).

MINHARRO, S.; ANDRADE, M.A.; SOBESTIANSKY, J.; JAYME, V.S. As alterações anatomopatológicas macroscópicas detectadas em abatedouros de aves sob inspeção federal no estado de Goiás no período de 1995-1997. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, 1999.

NAAS, I.A. Rastreabilidade: Uma exigência do mercado globalizado. In: II Conferência eletrônica: os desafios da América Latina para produção de suínos no mercado globalizado. **Anais...** Embrapa/CNPSA, 2002.

NUNES, F.G. Avicultura Brasileira: Trabalho e Êxito. **Indústria Avícola**, maio 2006, p. 15-19.

PATRÍCIO, I.S. Desempenho do frango nos últimos 17 anos (de 1990 a 2006). **Revista Avicultura Industrial**, n. 5, p. 35-37, 2007.

PRATA, L.F.; FUKUDA, R.T. **Fundamentos de Higiene e Inspeção de Carnes**. Jaboticabal: FUNDEP, 2001. 348p.

PONTES, A.P. Programa de controle de *Salmonella* em abatedouros de aves. In.: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola. Santos- SP, **Anais...** 2004, p.102.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.C.; LEONARD, F.C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**, Porto Alegre: Artmed, 2005, 512p.

RANDALL, C.J.; REECE, R.J. **Color Atlas of Avian Histopathology**. Turin: Mosby-Wolfe, 1996, 232p.

REZENDE C.S.M.; ANDRADE, M.A.; MESQUITA, A.J.; COELHO, K.O.; MINAFRA, C.S.; ARRUDA, M.L.T.; LAGE, M.E. *Salmonella* sp. em corações e fígados normais e condenados de frangos de corte abatidos no estado de Goiás e identificação da suscetibilidade a antimicrobianos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.2, p. 142-147, 2008.

RON, E.Z. Host apecificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. **Current Opinion in Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 28-32, 2006.

SANTOS, J.A. **Patologia Especial dos Animais Domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 576p.

SEAGRI. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. Apresenta indormações sobre a agropecuária baiana e sobre a entidade. Disponível em: [www.seagri.ba.gov.br/investir\\_oportunidade.asp#AVICULTURA](http://www.seagri.ba.gov.br/investir_oportunidade.asp#AVICULTURA). Acesso em: 20 out. 2012.

SEYED, A.P.; BOULIANNE, M.; MARTINEAU-DOIZÉ, B.; DOZOIS, C.M.; DESAUTELS, C.; FAIRBROTHER, M. Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens. **Avian diseases**, v.41, p.221-233, 1997.

SILVA, V.D.A. **Estudo sobre as principais causas de condenação total de carcaças de frango em um matadouro avícola do estado da Bahia sob inspeção federal**. 2005. 70f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVA, R.O.S.; SALVARANI, F.M.; ASSIS, R.A.; MARTINS, N.R.S.; PIRES, P.S.; LOBATO, F.C.F. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium perfringens* strains isolated from broiler chickens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.262-264, 2009.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. (Org.). **Microbiologia**. 4. ed., São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.

UBA. União Brasileira de Avicultura. Apresenta informações sobre a avicultura do Brasil e sobre a entidade. Disponível em: [www.uba.org.br/site3/ultimo\\_abril\\_2009.php](http://www.uba.org.br/site3/ultimo_abril_2009.php). Acesso em: 18 nov. 2012.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA L. C. da. **Características da Carne de Frango**, Boletim Técnico – Universidade Federal do Espírito Santo. PIE-UFES: 01307 - Editado: 18.08.2007.

VIEIRA-PINTO, M.; MATEUS, T.; SEIXAS, F.; FONTES, M.C.; MARTINS, C. O papel da inspeção sanitária *post mortem* em matadouros na detecção de lesões e processos patológicos em aves. Quatro casos de lesões compatíveis com a doença de Marek em carcaças de aves rejeitadas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 98, n. 574, p. 145-148, 2003.

## APÊNDICE

### MODELO DA FICHA DE AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DOS FÍGADOS DE FRANGO

Amostra nº: \_\_\_\_

Local: \_\_\_\_\_

PARÂMETROS			OBSERVAÇÕES:
<b>FORMA PADRÃO</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	
Bordas regulares			
Aumentadas			
Superfície regular			
<b>TAMANHO</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	
Pequeno			
Padrão			
Grande			
<b>CONSISTÊNCIA</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	
Firme			
Friável			
<b>COLORAÇÃO</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	
Marrom-escuro (padrão)			
Marrom-pálido			
Amarelado			
Esverdeado			
Congesto			
<b>ODOR</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	Qual?
Sui generis			
Outro			
<b>LESÕES</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	Quais?
Externas			
Internas			
Secreção			