

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Inspeção Sanitária de Frango Industrial

Estudo das causas de rejeição de fígados de Frango Industrial

-Versão Definitiva-

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Cláudia Gonçalves Passos

Orientadora:

Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto



Vila Real, 2021

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Inspeção Sanitária de Frango Industrial

Estudo das causas de rejeição de fígados de Frango Industrial

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Cláudia Gonçalves Passos

Orientadora:

Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Composição do Júri:

Presidente: Professor Doutor Dario Joaquim Simões Loureiro dos Santos

Vogais: Professora Doutora Anabela Gouveia Antunes Alves

Professora Doutora Maria da Conceição Medeiros Castro Fontes

Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Vila Real, 2021

Inspeção Sanitária de Frango Industrial
Estudo das causas de rejeição de fígados de Frango Industrial

O conteúdo apresentado é da exclusiva responsabilidade do autor.

Inspeção Sanitária de Frango Industrial
Estudo das causas de rejeição de fígados de Frango Industrial

Para os meus pais, Ana e Henrique, e irmã Rita.

Inspeção Sanitária de Frango Industrial
Estudo das causas de rejeição de fígados de Frango Industrial

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação marca o fim de uma importante etapa na minha formação académica. Agradeço por isso a todos aqueles que de alguma forma me ajudaram a cumprir este objetivo.

Agradeço, à minha orientadora, Professora Doutora Maria Madalena Vieira Pinto por toda a disponibilidade, ensinamentos e apoio ao longo deste trabalho.

Agradeço, também, à Professora Isabel Pires pela ajuda e disponibilidade na análise histopatológica.

Quero também agradecer a todos os Médicos Veterinários Oficiais nomeadamente, Dr.^a Alexandra, Dr.^a Virgínia, Dr.^a Joana, Dr. João e Dr. Carlos, que acompanhei no centro de abate de frangos da Marinha das Ondas, pela orientação e partilha de experiências.

Um agradecimento geral ao Grupo Lusiaves, nomeadamente ao Dr. Fernando Moreira, à equipa de produção avícola (Eng^a Sara e Eng^a Mariana) e as equipas dos dois turnos do centro de abate, pela disponibilidade e ajuda.

Agradeço a todos os colegas que se cruzaram comigo nestes anos de curso, nomeadamente, ao meu grupo em especial, que me acompanhou incansavelmente em todas as etapas, por todas as aventuras e partilha de experiências.

Um agradecimento em especial, aos meus amigos de sempre, Ana e Miguel, por toda a paciência, apoio e companheirismo ao longo deste percurso.

Por último, o meu agradecimento do fundo do coração à minha família, pais e irmã, que me possibilitaram a realização deste sonho, pelo constante apoio e incentivo nestes anos de curso.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VIII
ABSTRACT	X
LISTA DE ABREVIATURAS	XII
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
ÍNDICE DE TABELAS	XVI
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XVIII
1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. INSPEÇÃO SANITÁRIA EM FRANGO INDUSTRIAL	4
2.1.1. Informações relativas à cadeia alimentar (IRCA).....	4
2.1.2. Bem-estar animal	5
2.1.3. Inspeção <i>ante mortem</i>	7
2.1.4. Inspeção <i>post mortem</i>	8
2.1.5. Controlo de subprodutos animais.....	8
2.2. PRINCIPAIS CAUSAS DE REJEIÇÃO TOTAL DE FRANGO INDUSTRIAL	9
2.2.1. Alterações no fígado que levam a rejeição total de Frango Industrial	10
2.3. FÍGADO DE FRANGO INDUSTRIAL	11
2.3.1. Anatomia	11
2.3.2. Fisiologia e Histologia	12
2.4. PROCESSOS PATOLÓGICOS DO FÍGADO	14
2.4.1. Alterações de pigmentação.....	14
Pigmentos hemáticos	14
2.4.2. Distúrbios metabólicos e acumulações celulares.....	15
Esteatose ou Degenerescência gorda	15
2.4.3. Degenerescência e morte celular.....	16
Degenerescências Intracelulares.....	16
Morte Celular	18
2.4.4. Padrões de morte celular	18
Necrose focal	18
Necrose zonal	18
2.4.5. Inflamações do fígado	19
Doença aguda.....	19
Doença crónica	20
2.4.6. Alterações circulatórias.....	20

2.5. FATORES DE STRESSE EM FRANGO INDUSTRIAL	21
2.5.1. Stresse por calor	21
2.5.2. Stresse pelos procedimentos pré-abate	22
2.5.3. Stresse oxidativo	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. CENTRO DE ABATE	25
3.1.1. Inspeção <i>post mortem</i>	26
3.1.2. Medições e pesagens de Fígado e Vesícula Biliar de Frango Industrial.....	27
3.2. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	28
3.3. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. CAUSAS DE REJEIÇÃO TOTAL DO FRANGO DEVIDO A ALTERAÇÕES HEPÁTICAS	33
4.1.1. Fígado com suspeita de Hepatite Necrótica Focal.....	34
4.1.2. Fígado com suspeita de Hepatite Granulomatosa	36
4.1.3. Peri-hepatite.....	39
4.2. CAUSAS DE REJEIÇÃO PARCIAL DO FÍGADO	43
4.2.1. Fígado Friável	43
4.2.2. Fígado com suspeita de Esteatose Hepática.....	46
4.2.3. Fígado com alteração de cor	49
4.3. ESTUDO COMPARATIVO	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
6. BIBLIOGRAFIA	58

RESUMO

No decurso da inspeção *post mortem* em matadouro são várias as lesões que podem condicionar a rejeição de fígados. O conhecimento destas causas pode revelar-se de interesse para situar problemas sanitários específicos a nível da exploração.

Os principais objetivos deste trabalho consistiram no estudo das diferentes alterações macroscópicas que levaram à rejeição dos fígados na inspeção *post mortem* de frango industrial e a sua relação com a análise histopatológica.

O estudo decorreu num matadouro localizado no centro de Portugal, na qual, durante 90 dias, foram avaliados 1167884 frangos abatidos correspondentes a 199 lotes. Nestes, foram contabilizados os fígados rejeitados e as respetivas causas. Dos fígados rejeitados selecionou-se uma amostra de 50 com diferentes alterações macroscópicas para análise histopatológica no laboratório da UTAD. Este estudo identificou como principais alterações macroscópicas associadas à rejeição de 425705 fígados as seguintes seis alterações apresentadas por ordem decrescente (relativamente ao nível de ocorrência): friáveis (68,89%), alteração macroscópica compatível com esteatose hepática (30,81%), alteração de cor (cor escura com tonalidade esverdeada) (0,21 %), alteração macroscópica compatível com hepatite focal necrótica (0,05%), alteração macroscópica compatível com hepatite granulomatosa (0,03%) e peri-hepatite fibrinosa (0,02%). A análise histopatológica efetuada às amostras relativa a cada uma destas alterações, confirmou o diagnóstico macroscópico no caso da alteração compatível com esteatose hepática, alteração compatível com hepatite focal necrótica, alteração compatível com hepatite granulomatosa e peri-hepatite fibrinosa. Em oposição, as restantes alterações tiveram um diagnóstico histopatológico diferente. Nomeadamente, os fígados friáveis foram classificados como hepatite aguda e os fígados com alteração de cor foram classificados como congestivos.

Foi analisado estatisticamente a relação das diferentes causas de rejeição com as variáveis hora de abate, peso do frango, idade do frango, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais. Apenas o número das rejeições dos fígados friáveis e com suspeita de esteatose hepática, as duas principais causas de rejeição do fígado, tiveram uma correlação negativa altamente significativa ($p < 0,001$), com a hora de abate, o tempo de jejum e de espera no cais. Relativamente aos fígados com alteração de cor (cor escura com tonalidade esverdeada), verificou-se uma correlação positiva com estes parâmetros, mas também altamente significativa ($p < 0,001$).

Estes resultados permitem sublinhar a importância de rever alguns códigos de classificação das rejeições hepáticas que, neste estudo, revelaram alterações

histopatológicas distintas das macroscópicas e com significados etiológicos e patológicos diferentes. Esta harmonização reveste-se de extrema importância num sistema integrado de inspeção sanitária bidirecional (“farm to abattoir to farm”) que caracteriza esta fileira de produção.

Também permitem realçar a importância de um bom manejo de todas as etapas pré abate, incluindo o jejum pré abate, o transporte, o tempo de espera no cais, para evitar situações de stresse e alterações a nível hepático as quais podem estar associadas a perdas económicas.

Palavras-chave: Inspeção sanitária, fígado, causas de rejeição, análise histopatológica.

ABSTRACT

. During *post mortem* inspection in a slaughterhouse, there are several injuries that can lead to liver rejection. Knowledge of these causes may prove to be of interest to locate specific health problems at farm level.

The main objectives of this work were to study the different macroscopic changes that led to liver rejection in *post mortem* inspection of industrial poultry and its relationship with the histopathological analysis.

The study took place in a slaughterhouse located in Portugal, where, for 90 days, 1167884 slaughtered poultry corresponding to 199 batches were evaluated. In these, rejected livers and their causes were counted. From the rejected livers, a sample of 50 with different macroscopic changes was selected for histopathological analysis in the UTAD laboratory. This study identified as the main macroscopic changes associated with the rejection of 425705 livers the following six alterations presented in descending order (relative to the level of occurrence): friable (68.89%), macroscopic change compatible with hepatic steatosis (30.81%), alteration color (dark color with greenish hue) (0.21%), macroscopic change compatible with focal necrotic hepatitis (0.05%), macroscopic change compatible with granulomatous hepatitis (0.03%) and fibrinous perihepatitis (0.02%). The histopathological analysis performed on the samples for each of these alterations confirmed the macroscopic diagnosis in the case of a macroscopic change compatible with hepatic steatosis, a macroscopic change compatible with focal necrotic hepatitis, a macroscopic change compatible with granulomatous hepatitis and fibrinous perihepatitis. In contrast, the remaining alterations had a different histopathological diagnosis. In particular, friable livers were classified as acute hepatitis and livers with color change were classified as congestive.

The relationship of the different rejection causes with the variables time of slaughter, poultry weight, age of the poultry, pre-slaughter fasting time and waiting time at slaughterhouse's lairage was statistically analyzed. Only the value of rejections from friable livers and with suspected hepatic steatosis, the two main causes of liver rejection, had a highly significant negative correlation ($p < 0.001$) with the time of slaughter, the time of fasting and waiting at slaughterhouse's lairage. Regarding livers with color change, there was a positive correlation with these parameters, but also highly significant ($p < 0.001$).

These results allow us to underline the importance of reviewing some classification codes of liver rejections that, in this study, revealed histopathological changes distinct from macroscopic ones and with different etiological and pathological meanings. This harmonization

is extremely important in an integrated bidirectional sanitary inspection system (“farm to abattoir to farm”) that characterizes this production line.

They also highlight the importance of good management of all pre-slaughter stages, including pre-slaughter fasting, transport, waiting time at slaughterhouse’s lairage, to avoid stressful situations and changes in the liver which may be associated with economic losses.

Keywords: Meat inspection, liver, causes of rejection, histopathological analysis.

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
cm	Centímetro
DAP	Dermatite das almofadas plantares
DGAV	Direção Geral de Alimentação Veterinária
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EU	União Europeia
g	Gramma
HACCP	Hazard Analysis Control Point (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos)
H&E	Hematoxilina & Eosina
IRCA	Informação Relativa à Cadeia Alimentar
IS	Inspeção Sanitária
Kg	Quilograma
MVO	Médico Veterinário Oficial
n.º	Número
OIE	Office International des Épizooties (Organização Mundial de Saúde Animal)
PNCS	Plano Nacional de Controlo de Salmonela
PSE	Pálida, Mole, Exsudativa
SIPACE	Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos
TMA	Taxa de Mortalidade Acumulada
TRT	Taxa de Rejeição Total

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exemplificação do preenchimento da IRCA, nomeadamente a caracterização do bando, transportador, matadouro destino e data e hora previstas de saída da exploração (Fotografia cedida pelo Grupo Lusiaves).....	4
Figura 2. Exemplificação do preenchimento da IRCA, nomeadamente o estatuto sanitário dos animais, medicamentos, ocorrência de doenças e exames executados para diagnóstico de doenças ou no Âmbito de vigilância e controlo de zoonoses (Fotografia cedida pelo grupo Lusiaves).....	5
Figura 3. Imagem exemplificativa dos graus de classificação das DAPs, da esquerda para a direita, grau 0, grau 1 e grau 2, respetivamente.	7
Figura 4. Classificação de subprodutos.....	9
Figura 5. Fígado sem alterações macroscópicas.	12
Figura 6. Microfotografia. Fígado morfológicamente normal (HE, 100x).....	14
Figura 7. Tipos de degenerescências intracelulares adaptado de Pires <i>et al.</i> , 2004.....	17
Figura 8. Fluxograma dos principais fatores causadores de stress nos frangos industriais durante as fases das operações de pré-abate adaptado de Benincasa <i>et al.</i> (2020).....	23
Figura 9. Informação recolhida em cada lote de frango industrial analisado. Legenda: TMA – Taxa Mortalidade Acumulada, PNC – Plano Nacional de Controlo, N°- Número.	25
Figura 10. Imagem ilustrativa do sistema digestivo do frango que foi utilizado para ser pesado na sua totalidade.	28
Figura 11. Imagem ilustrativa de como foi realizada a medição do comprimento (C) e largura (L) em cm do fígado e da vesícula biliar.	28

Figura 12. Imagem ilustrativa da recolha de amostras de fígados com alterações macroscópicas.	29
Figura 13. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis com Hepatite Necrótica Focal.	34
Figura 14. Microfotografia da Análise Histopatológica com diagnóstico de Hepatite Necrótica Focal (HE, 100x).....	34
Figura 15. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis Hepatite Granulomatosa.	36
Figura 16. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis Hepatite Granulomatosa.	36
Figura 17. Microfotografia da Análise Histopatológica compatível com Hepatite Granulomatosa (HE, 100x).....	37
Figura 18. Fígado com Peri-hepatite fibrinosa.	39
Figura 19. Fígado com Peri-hepatite fibrinosa.	39
Figura 20. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de Peri-hepatite fibrinosa (HE, 100x).....	40
Figura 21. Fígado com consistência friável.	43
Figura 22. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de Hepatite Aguda (HE, 100x).....	44
Figura 23. Fígado com lesões compatíveis com Esteatose Hepática.	46
Figura 24. Fígado esquerdo sem alterações microscópicas em comparação com fígado direito com lesões compatíveis com Esteatose Hepática.	46
Figura 25. Microfotografia da Análise histopatológica compatível com Lipidose Hepática (HE, 100x).....	47
Figura 26. Fígado com alteração de cor, mais escuro e com tonalidade esverdeada.	49
Figura 27. Fígado com alteração de cor, mais escuro e com tonalidade esverdeada.	50

Figura 28. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de congestão (HE,100x).....50

Figura 29. Exemplo de um fígado rejeitado (esquerda) recolhido no 1º turno de abate, em comparação a um fígado aprovado (direita) recolhido no 2º turno de abate.54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais causas de reprovação total de frango entre 2014 a 2019 (retirado de DGAV, 2020).....	10
Tabela 2. Total de frangos reprovados por aparelho ou sistema em Portugal entre 2014 a 2019 (Retirado da DGAV, 2020).....	10
Tabela 3. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Hepatite Nocrótica Focal com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.....	35
Tabela 4. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Hepatite Granulomatosa com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.....	38
Tabela 5. Relação da % fígados rejeitados com peri-hepatite fibrinosa com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.....	41
Tabela 6. Relação da % fígados rejeitados com consistência friável com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.....	45
Tabela 7. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Esteatose Hepática com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.	48
Tabela 8. Relação da % fígados rejeitados com alteração de cor com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.....	51

Tabela 9. Estudo comparativo dos fígados aprovados com os fígados rejeitados em relação as variáveis: peso total do aparelho digestivo, peso do fígado, subtração do peso do fígado ao peso total, peso dos intestinos, comprimento do fígado, largura do fígado, comprimento da vesícula biliar e largura da vesícula biliar.....53

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Total de frangos abatidos em Portugal entre 2011 a 2019 (retirado da DGAV,2020).....	1
Gráfico 2. Número e percentagem de frangos observados que foram aprovados e rejeitados na inspeção <i>post mortem</i>	31
Gráfico 3. Número e percentagem de fígados observados que foram aprovados e rejeitados.....	31
Gráfico 4. Número e percentagem dos fígados rejeitados de cada causa observada na inspeção <i>post mortem</i>	32
Gráfico 5. Número e percentagem de frangos observados com rejeição total da carcaça por alterações macroscópicas do fígado.	33

1.INTRODUÇÃO

A produção de carne de frango e o seu consumo *per capita* tem sofrido um grande aumento a nível mundial. O volume de abate de frangos em Portugal tem vindo a aumentar ao longo dos anos, como observado no gráfico 1. A carne de frango é cada vez mais valorizada pela população mundial pelo seu valor nutricional e preço competitivo em relação a carnes de outras espécies (Petracci & Cavani, 2012).

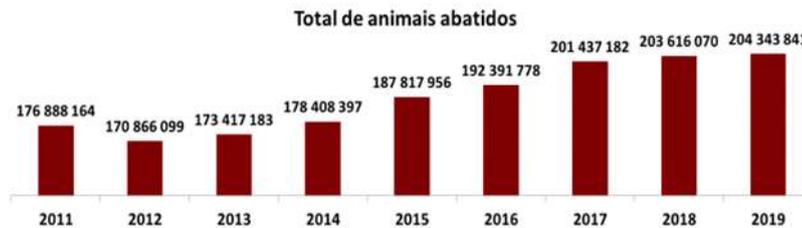


Gráfico 1. Total de frangos abatidos em Portugal entre 2011 a 2019 (retirado da DGAV,2020).

Na produção do frango industrial estão envolvidas várias etapas, das quais incubação de ovos, criação, transporte, abate e processamento dos produtos derivados do abate. Por isso é importante a aplicação de boas práticas em cada uma das etapas para garantir segurança e qualidade do produto final. Neste âmbito, o papel do médico veterinário na produção de frango industrial é não só, o tratamento e prevenção de doenças e bem-estar animal, mas também a segurança alimentar, garantindo que apenas os produtos de origem animal que reúnem as características higio-sanitárias adequadas sejam comercializados para consumo humano (Roth, 2011).

Das tarefas de inspeção fazem parte a avaliação da informação sobre a cadeia alimentar (IRCA); a inspeção *ante mortem*; o bem-estar dos animais; a inspeção *post mortem*, a correta gestão dos subprodutos animais; e os testes laboratoriais (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

O fígado é um órgão importante do ponto de vista funcional, pois participa em inúmeros processos metabólicos no organismo. Por isso, está sujeito a agressões que, dependendo da

intensidade e duração, desencadeiam respostas por parte do mesmo, com vista à sua recuperação. Embora seja um órgão com grande capacidade de regeneração, as alterações macroscópicas que o atingem são motivo de rejeição na inspeção *post mortem* (Miguel, 2009).

O fígado pode apresentar inúmeras alterações patológicas desde alterações circulatórias, degenerativas, inflamatórias e neoplásicas. Muitas lesões hepáticas não são patogénicas quanto à etiologia, mas fornecem informações importantes acerca de possíveis doenças sistémicas (Hoerr, 1996). Sendo assim é um dos órgãos mais importantes para o diagnóstico precoce de doenças avícolas.

O estudo sistemático de lesões hepáticas em frangos é realizado para saber a incidência de várias alterações patológicas que afetam o fígado junto com sua possível base etiológica. Embora as lesões hepáticas não sejam patogénicas para cada doença, um estudo das alterações macroscópicas e histológicas do fígado pode ser útil para fazer um diagnóstico de várias doenças em frangos (Alam *et al.*, 2019).

A natureza das lesões hepáticas e sua correlação com o isolamento de agentes potencialmente patogénicos podem fornecer informações sobre o estado geral de saúde de um bando de frangos e o perigo potencial para a saúde dos consumidores (Militaru *et al.*, 2010).

O fígado é um órgão bastante sensível a alterações do metabolismo causadas pelo stresse. O stresse ocorre inevitavelmente nos animais da pecuária moderna. Fatores de stresse, incluindo mudanças ambientais, regulação nutricional, procedimentos de manuseamento pré-abate e outros fatores de stresse, podem estimular o sistema neuro endócrino e afetar as funções imunológicas e metabólicas, levando a alterações bioquímicas e metabólicas no período *post mortem* inicial. Essas mudanças afetam seriamente o bem-estar animal e os atributos de qualidade da carne (Xing *et al.*, 2019).

Objetivos:

Os principais objetivos do presente trabalho incluíram:

- Estudo das diferentes alterações macroscópicas que levaram à rejeição parcial de fígados de frango industrial;
- Estudo das diferentes alterações macroscópicas de fígados que levaram à reprovação total de frango industrial;
- Avaliação histopatológica das alterações hepáticas para comparação com as alterações macroscópicas e confirmação do diagnóstico;
- Avaliar a existência de diferenças na pesagem e medição dos fígados e vesículas biliar em lotes rejeitados comparativamente aos lotes aprovados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Inspeção Sanitária em Frango Industrial

Segundo o Regulamento de Execução (EU) 2019/627, o médico veterinário oficial deve efetuar inspeções em matadouros, instalações de tratamento e de desmancha de caça que comercializem carne fresca, especialmente no que diz respeito a:

- Informações sobre a cadeia alimentar;
- Inspeção *ante mortem*;
- Bem-estar dos animais;
- Inspeção *post mortem*;
- Subprodutos animais;
- Testes laboratoriais.

2.1.1. Informações relativas à cadeia alimentar (IRCA)

O veterinário oficial deve verificar e analisar as informações pertinentes constantes dos registos da exploração de proveniência dos animais destinados ao abate como exemplificados na Figura 1 e 2. Deve também ter em conta os resultados documentados dessas verificações e análises ao efetuar as inspeções *ante* e *post mortem* (Regulamento de execução (EU) 2019/627).

2. Caracterização do bando

Espécie: Frango	Identificação do bando: R267-1702-001-A	Modo de produção (Marcar com X): Intensivo <input checked="" type="checkbox"/> Semi-Liberdade <input type="checkbox"/> Extensivo de Interior <input type="checkbox"/> Ar Livre <input type="checkbox"/> Liberdade <input type="checkbox"/> Biológico <input type="checkbox"/>				
Pavilhão 001-A	No de Animais 11650	Idade ao Abate 40	Peso Vivo Médio 2,3600	Densidade Máxima Praticada 1	TMA 2,12%	TMDA

3. Transportador

Nome: Lusiaves No de Autorização: PT102R Matrícula do veículo: L-140282

4. Matadouro destino (nome e Numero Controlo Veterinário)

Lusiaves, SA PT B/522 CE

5. Data e hora previstas de saída da exploração

28-11-2017 Hora de início da apanha das aves: 20 h 00 m Hora de término da apanha das aves: 21 h 20 m

Figura 1. Exemplificação do preenchimento da IRCA, nomeadamente a caracterização do bando, transportador, matadouro destino e data e hora previstas de saída da exploração (Fotografia cedida pelo Grupo Lusiaves).

7. Estatuto sanitário dos animais, da exploração e/ou estatuto sanitário regional

Bando Negativo

8. Medicamentos e outros produtos de uso veterinário administrados

Tribissen 200ml, 23-10-2017 (Primeiro dia de medicação), Medicação: 4 dias, 26-10-2017 (Último dia de medicação), 1 Segurança: 5 dias ;
Hidrocol 4.000.000UI 5L, 7-11-2017 (Primeiro dia de medicação), Medicação: 4 dias, 10-11-2017 (Último dia de medicação), 1 Segurança: 1 dias ;
Linc Agro Kg, 7-11-2017 (Primeiro dia de medicação), Medicação: 2 dias, 8-11-2017 (Último dia de medicação), 1 Segurança: 0 dias ;
Kg, 21-11-2017 (Primeiro dia de medicação), Medicação: 2 dias, 22-11-2017 (Último dia de medicação), 1 Segurança: 0 dias ;

9. Ocorrência de doenças

Nada a Registrar

10. Exames executados para diagnóstico de doenças ou no âmbito de vigilância e controlo de zoonoses

10.1. Exames executados no âmbito do Programa Nacional de Controlo de Salmonella			Resultado laboratorial:
Data recolha da amostra:	Laboratório de deteção:	Número de análise (atribuída por o lab de deteção):	Negativo
21-11-2017	Controlvet	D/19966/17	

Figura 2. Exemplificação do preenchimento da IRCA, nomeadamente o estatuto sanitário dos animais, medicamentos, ocorrência de doenças e exames executados para diagnóstico de doenças ou no Âmbito de vigilância e controlo de zoonoses (Fotografia cedida pelo grupo Lusivaves).

Ao efetuar as suas tarefas de inspeção, o veterinário oficial deverá ter em conta os certificados oficiais que acompanham os animais e quaisquer declarações feitas pelos veterinários que procederam aos controlos a nível da produção primária (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

Sempre que os operadores das empresas do sector alimentar que participam na cadeia alimentar tomem medidas adicionais no sentido de garantir a segurança dos alimentos, através da aplicação de sistemas integrados, de sistemas de controlo privados, de certificação por terceiras partes independentes ou por outros meios, e sempre que estas medidas sejam documentadas e os animais abrangidos por esses sistemas sejam claramente identificáveis, o veterinário oficial poderá ter esse facto em consideração ao efetuar as tarefas de inspeção e ao analisar os procedimentos baseados no sistema HACCP (Regulamento de execução (EU) 2019/627).

2.1.2. Bem-estar animal

A Diretiva 2007/43/CE e o Decreto-Lei n.º 79/2010 de 25 de jun. estabelece que todos os bandos de frangos (produção intensiva), têm que ser avaliados no matadouro em relação a um conjunto de parâmetros de bem-estar.

Os parâmetros de avaliação do bem-estar dos Frangos no Matadouro são:

- Taxa de mortalidade acumulada na exploração (TMA): medida pelo número de frangos que morreram num pavilhão até ao momento de envio para abate, incluindo os que tenham sido eliminados por doença ou por outros motivos, dividido pelo número de frangos presentes no pavilhão no momento da entrada, multiplicado por 100 (Limite máximo 6 %);
- Taxa de mortalidade diária acumulada: calculada pela soma das taxas de mortalidade diárias (Limite máximo 6 %);
- Taxa de mortalidade no transporte: calculada pelo número de frangos de um lote que morreram no transporte, dividido pelo número de frangos de um lote transportados, multiplicado por cem (Limite máximo de 0,5 %).
- Taxa de rejeição total (TRT): calculada pelo número total de animais rejeitados num lote, após inspeção *post mortem*, dividido pelo número de frangos de um lote (Limite máximo 4 %).
- Dermatites das almofadas plantares (DAP);
- Percentagem de traumatismos extensos (limite máximo 2%) (DGAV, 2011).

Para avaliar as dermatites das almofadas plantares o Médico Veterinário Oficial (MVO) do matadouro, recolhe uma amostra de cem patas de diferentes animais da linha de abate em cada lote de frango abatido e realize a avaliação do grau de gravidade da DAP, utilizando a seguinte pontuação como se observa na Figura 3:

- Grau 0- sem lesão;
- Grau 1- pequenas lesões;
- Grau 2- lesões graves (DGAV, 2011).

Após terem sido contabilizadas o nº de patas de grau 0, 1 e 2, da amostra de 100 patas, deve-se determinar o grau de DAP do lote. Para tal ir-se-á utilizar a seguinte fórmula:

- O nº de patas de grau 0 não conta para a pontuação
- O nº de patas do grau 1 multiplica-se por 0,5 – A
- O nº de patas do grau 2 multiplica-se por 2 – B

Pontuação das patas= (A+B) x tamanho da amostra/100 (DGAV, 2011).

Será dado um grau de DAP de 0,1 ou 2 tendo em conta os seguintes valores:

- Pontuação das patas de 0 a 50 – grau 0
- Pontuação das patas de >50 a 80 – grau 1
- Pontuação das patas >80 – grau 2 (DGAV, 2011).



Figura 3. Imagem exemplificativa dos graus de classificação das DAPs, da esquerda para a direita, grau 0, grau 1 e grau 2, respetivamente.

2.1.3. Inspeção *ante mortem*

O Veterinário oficial deve proceder a uma inspeção *ante mortem* de todos os animais antes do abate.

A inspeção *ante mortem* deve ser efetuada nas 24 horas seguintes à chegada dos animais ao matadouro e menos de 24 horas antes do abate. O veterinário oficial pode ainda exigir uma inspeção em qualquer outro momento (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

A inspeção *ante mortem* deve determinar nomeadamente se, no que se refere ao animal inspecionado, existem sinais:

- Que o seu bem-estar tenha sido comprometido;
- Qualquer outro fator que possa ter consequências negativas para a saúde humana ou animal, com especial atenção para a deteção de doenças zoonóticas, doenças constantes da lista A ou, se for caso disso, da lista B da Organização Internacional das Epizootias (OIE) (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

2.1.4. Inspeção *post mortem*

As carcaças e as miudezas que as acompanham devem ser submetidas a uma inspeção *post mortem* imediatamente após o abate. Todas as superfícies externas devem ser examinadas. Para esse fim, podem ser necessárias instalações técnicas especiais ou uma manipulação mínima da carcaça e das miudezas. A velocidade da cadeia de abate e a quantidade de pessoal de inspeção presente devem ser de molde a permitir uma inspeção correta (Regulamento de execução (EU) 2019/627).

Devem ser efetuados exames suplementares, tais como a palpação e a incisão de partes da carcaça e das miudezas e testes laboratoriais, sempre que tal seja considerado necessário para:

- Chegar a um diagnóstico definitivo;
- Detetar:
 - Uma doença;
 - Resíduos ou contaminantes em teores superiores aos estabelecidos na legislação comunitária;
 - A não conformidade com os critérios microbiológicos;
 - Outros fatores que possam implicar que a carne seja declarada imprópria para consumo humano ou que sejam impostas restrições à sua utilização, em especial, no caso de animais abatidos com carácter de urgência (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

Em relação aos testes laboratoriais, o veterinário oficial deve assegurar que sejam recolhidas amostras e que estas sejam devidamente identificadas, tratadas e enviadas para o laboratório adequado no âmbito, da vigilância e controlo de zoonoses e agentes zoonóticos (Regulamento de Execução (EU) 2019/627).

2.1.5. Controlo de subprodutos animais

De acordo com o Regulamento nº 1069/2009, subprodutos animais são corpos inteiros ou partes de animais mortos, produtos de origem animal e outros produtos que provenham de animais que não se destinam ao consumo humano, incluindo oócitos, embriões e sémen.

Os subprodutos animais surgem principalmente no abate de animais para consumo humano, durante a produção de géneros alimentícios de origem animal como os produtos lácteos e durante a eliminação de animais mortos e na aplicação de medidas de controlo de

doenças. Independentemente da sua origem, constituem um risco potencial para a saúde pública e animal e para o ambiente (Regulamento nº1069/2009).

Este risco tem de ser controlado adequadamente, mediante o encaminhamento de tais produtos para meios de eliminação seguros ou mediante a sua utilização para outros fins, desde que sejam aplicadas condições rigorosas que minimizem os riscos sanitários envolvidos (Regulamento nº1069/2009).

Em conformidade com o Regulamento nº1069/2009 relativamente a matérias de risco especificadas e outros subprodutos animais, o veterinário oficial deve verificar a remoção e a sua separação como está representado na Figura 4 em Matérias da categoria 2 (M2) e Matérias da categoria 3 (M3). O veterinário oficial deve assegurar que o operador da empresa do sector alimentar tome todas as medidas necessárias para evitar a contaminação da carne com matérias de risco especificadas durante o abate (incluindo o atordoamento) e a remoção dessas matérias.

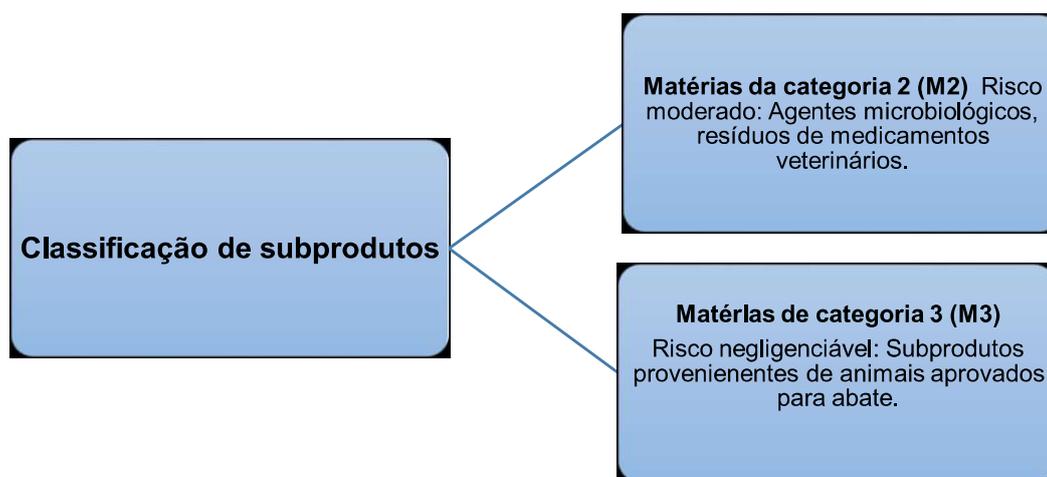


Figura 4. Classificação de subprodutos.

2.2. Principais causas de rejeição total de Frango Industrial

Como se observa na Tabela 1, as principais causas de reprovação total da carcaça em 2019 foram: caquexia, estado febril, celulite, traumatismo mecânico, aerossaculite, alteração da cor, sangria insuficiente, ascite e miopatia.

Tabela 1. Principais causas de reprovação total de frango entre 2014 a 2019 (retirado de DGAV, 2020).

Causas de reprovação	Condemnation causes	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Caquexia	Cachexia	435 767	363 415	402 388	480 058	527 904	481 414
Estado Febril	Febrile State	394 105	393 670	434 208	334 034	309 153	297 062
Celulite	Cellulitis	174 453	208 491	225 125	195 882	225 193	181 449
Traumatismo Mecânico	Mechanical trauma	44 197	75 723	92 533	163 281	233 173	181 298
Aerossaculite	Airsacculitis	71 120	138 513	69 068	191 833	184 684	147 913
Alteração Anormal de Cor	Significant abnormalities of colour	66 983	73 977	72 392	94 180	100 197	113 561
Sangria Insuficiente	Insufficient bleeding	87 515	112 120	127 021	119 664	113 420	113 395
Ascite/Hidroémia	Ascites / Hydroemia	94 351	109 453	132 565	154 832	139 236	110 538
Miopatia	Myopathy					22 824	88 020
Caidos nas máquinas	Technopathies - Fallen on the machines	41 397	41 753	23 183	58 137	70 976	71 147
Peritonite	Peritonitis	31 198	35 427	41 552	42 923	62 184	70 487
Excesso de escaaldão	Excessive scalding	36 327	38 574	30 370	36 057	51 916	59 076
Lesão Fibrino-Purulenta	Fibrinopurulent lesion	45 537	37 838	36 183	32 820	59 962	53 894
Pericardite	Pericarditis	40 344	47 997	61 504	62 082	78 462	42 814
Conspuração Generalizada	Generalized soiling	60 135	49 361	61 450	71 809	69 256	41 795
Hepatite Granulomatosa	Granulomatous hepatitis	2 239	6 488	6 589	9 847	21 808	23 087
Traumatismo Extenso	Extensive trauma	8 030	15 046	20 371	16 472	17 897	18 139
Perihepatite	Perihepatitis	29 132	30 347	35 632	24 261	26 392	15 784
Artrite Supurativa	Suppurative arthritis	12 646	12 731	15 157	17 961	20 681	14 972
Hepatite Focal Necrótica	Focal necrotic hepatitis	8 240	8 414	19 291	12 281	20 485	13 149
Dermatite Supurada	Suppurative Dermatitis	8 704	8 658	13 190	7 538	9 429	9 965
Outros Motivos	Other reasons	2 754	7 959	6 610	6 619	6 872	7 801

2.2.1. Alterações no fígado que levam a rejeição total de Frango Industrial

O fígado é o sétimo órgão que mais provoca reprovação total da carcaça, em 2019, houveram 52 809 rejeições totais da carcaça derivadas a alterações hepáticas, como se observa na Tabela 2.

As principais causas foram: Hepatite Granulomatosa (23 087), Perihepatite (15 784) e Hepatite Focal Necrótica (13 149) (Tabela 1).

Tabela 2. Total de frangos reprovados por aparelho ou sistema em Portugal entre 2014 a 2019 (Retirado da DGAV, 2020).

Aparelho ou sistema	System or organ	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Alterações gerais	General conditions	1 008 909	963 545	1 067 338	1 092 302	1 108 613	1 033 810
Tecnopatias	Technopathies	274 751	329 258	345 099	452 891	542 517	470 627
Pele e tecido conjuntivo	Skin and connective tissue	232 979	260 261	278 925	238 518	297 066	249 791
Aparelho Respiratório	Respiratory system	71 120	138 513	69 068	191 833	184 684	147 913
Aparelho Músculo-esquelético	Musculoskeletal System	15 364	16 148	21 501	34 175	72 527	108 869
Aparelho Digestivo	Digestive System	32 303	38 431	45 068	44 213	63 916	72 015
Fígado e Baço	Liver and Spleen	39 984	45 908	63 306	47 098	69 552	52 809
Aparelho Cardiovascular	Cardiac system	40 344	47 997	61 504	62 082	78 462	42 814
Outros Motivos	Other causes	2 777	7 988	6 633	6 634	6 882	9 337
Aparelho Reprodutor	Reproductive System	960	901	783	786	369	188
Doenças infecciosas	Infectious diseases	102	0	525	107	19	0
Total de Reprovados	Total of condemnations	1 719 593	1 848 950	1 959 750	2 170 639	2 424 607	2 188 173

2.3. Fígado de Frango Industrial

Semelhante aos mamíferos, o fígado dos frangos está envolvido em uma série de funções metabólicas e homeostáticas. É responsável pela maior parte dos processos de síntese, metabolismo, excreção e desintoxicação. Por isso desempenha um papel importante na digestão e metabolismo, regulando a produção, armazenamento e liberação de lípidos, hidratos de carbono e proteínas (Denbow, 2000).

O fígado funciona como uma glândula endócrina e exócrina, produzindo uma variedade de proteínas, incluindo proteínas do sangue, enzimas, hormonas e fatores imunológicos (Denbow, 2000).

Para manter um frango saudável, este órgão deve ser mantido em excelentes condições. Portanto, uma melhor compreensão das funções metabólicas e dos fatores que podem causar distúrbios no fígado é importante para a produção de frangos saudáveis (Zaefarian *et al.*, 2019).

2.3.1. Anatomia

O fígado constitui o maior órgão globuloso da cavidade celômica das aves. Apresenta coloração castanha escura e consistência firme quando a ave é adulta (Figura 5) e coloração amarelada em aves jovens, até duas semanas após a eclosão, oriunda dos pigmentos da gema que continuam a ser absorvidos do intestino antes que o saco vitelino finalmente regrida (Saviane, 2009).

Divide-se em dois lóbulos, o lado direito possui um maior volume e o esquerdo possui uma divisão secundária, os quais são ligados cranialmente por uma ponte dorsal ao coração, localizados logo abaixo do osso esterno. Em contraste com os mamíferos, as aves não têm diafragma; portanto os lobos do fígado, em vez dos pulmões, rodeiam a porção caudal do coração (Dice *et al.*, 2004, Lucas & Denington, 1956).

O lobo direito é maior, apresentando a vesícula biliar em sua superfície visceral, sendo atravessado pela veia cava caudal. A superfície parietal (Figura 5) é convexa e localiza-se contra as costelas esternais e o esterno; ficando exposta quando os músculos peitorais e o esterno são removidos, no exame *post mortem*. A superfície visceral é côncava, estando em

contato com o baço, o proventrículo, a moela, o duodeno, o jejuno e o ovário (ou o testículo direito) (Dice *et al.*, 2004).



Figura 5. Fígado sem alterações macroscópicas.

O peritoneu visceral cobre o fígado e adere intimamente à sua superfície. Existem vários anexos, ligamentos e omento segurando este órgão no lugar (Kmiec, 2001).

A posição do fígado no sistema circulatório fá-lo receber, transformar e acumular metabolitos, assim como neutralizar e eliminar substâncias tóxicas. A eliminação faz-se através da biliar, secreção exócrina do fígado muito importante para a digestão dos lípidos (Junqueira & Carneiro, 2004).

2.3.2. Fisiologia e Histologia

O fígado tem como unidade básica a célula hepática, também chamada hepatócito. São células poliédricas, de seis ou mais lados. Com a técnica de coloração de hematoxilina e eosina (H&E) o citoplasma dos hepatócitos é eosinofílico devido ao grande número de mitocôndrias como pode ser observado na Figura 6 (Junqueira & Carneiro, 2004).

A superfície de cada hepatócito está em contato com a parede do capilar sinusóide e com a superfície de outros hepatócitos (Dice *et al.*, 2004).

Os sinusóides hepáticos são vasos irregularmente dilatados constituídos por uma camada descontínua de células endoteliais fenestradas. As células endoteliais estão separadas dos hepatócitos adjacentes por um espaço subendotelial, chamado espaço de Disse, que contém microvilosidades e fibras reticulares (Junqueira & Carneiro, 2004).

As células de Kupffer são macrófagos que se encontram nos sinusóides hepáticos. Localizam-se na superfície luminal das células endoteliais e têm como funções metabolizar eritrócitos velhos, digerir hemoglobina, secretar proteínas relacionadas com processos imunológicos e fagocitar patógenos que eventualmente penetrem na circulação portal. Estas células representam cerca de 15% das células do fígado, localizando-se maioritariamente na região periportal (periférica) do lóbulo hepático (Junqueira & Carneiro, 2004, Kmiec, 2001).

Na periferia dos lóbulos hepáticos existem os chamados espaços porta, cada um contendo um ramo da veia porta, um ramo da artéria hepática, um ducto biliar e vasos linfáticos. Os hepatócitos apresentam diferenças quanto às suas características estruturais, histoquímicas e bioquímicas consoante a sua distância em relação ao espaço porta (Junqueira & Carneiro, 2004).

Na veia porta circula o sangue proveniente do trato digestivo, pâncreas e baço. Esta veia ramifica-se sucessivamente, formando pequenas vénulas portais que envia para os espaços porta. As vénulas por sua vez, ramificam-se em vénulas distribuidoras que correm na periferia do lóbulo hepático. A partir das vénulas distribuidoras, pequenas vénulas desembocam nos capilares sinusóides. Estes, ao correrem radialmente, convergem para o centro do lóbulo formando a veia centrolobular. Este vaso tem uma parede fina, constituída por células endoteliais suportadas por fibras de colagénio. (Junqueira & Carneiro, 2004)

À medida que a veia centrolobular progride pelo lóbulo vai recebendo sinusóides, aumentando o seu volume; sai do lóbulo pela base desembocando na veia sub-lobular. As veias sub-lobulares convergem e fundem-se, originando duas ou mais grandes veias hepáticas (Junqueira & Carneiro, 2004).

Quando dois hepatócitos estão justapostos, delimita-se um espaço tubular entre eles, o qual se designa por canalículo biliar. Esta estrutura constitui a primeira porção do sistema ductal biliar. Os canalículos biliares formam uma rede complexa que se anastomosa e termina na região do espaço porta. A bÍlis é produzida pelos hepatócitos, flui progressivamente na direcção contrária à do sangue, do centro do lóbulo hepático para a sua periferia (espaço porta). Na periferia, a bÍlis entra nos ductulos biliares, também chamados canais de Hering, que são constituídos por uma camada de células epiteliais cúbicas, e que vão desembocar nos ductos biliares localizados nos espaços porta. Estes canais aumentam gradualmente de diâmetro e fundem-se, dando origem aos ductos hepáticos direito e esquerdo. Estes fundem-se para formar o canal hepático comum que, após receber o canal cístico (proveniente da

vesícula biliar) continua até ao duodeno como canal colédoco ou canal biliar comum (Junqueira & Carneiro, 2004).

A secreção de biliar é uma função exócrina, uma vez que os hepatócitos captam do sangue, metabolizam e excretam vários componentes para o interior dos canalículos biliares. Além de água e electrólitos, a biliar possui ácidos biliares, fosfolípidos, colesterol e bilirrubina, a qual, quando não é excretada desencadeia icterícia (Junqueira & Carneiro, 2004).

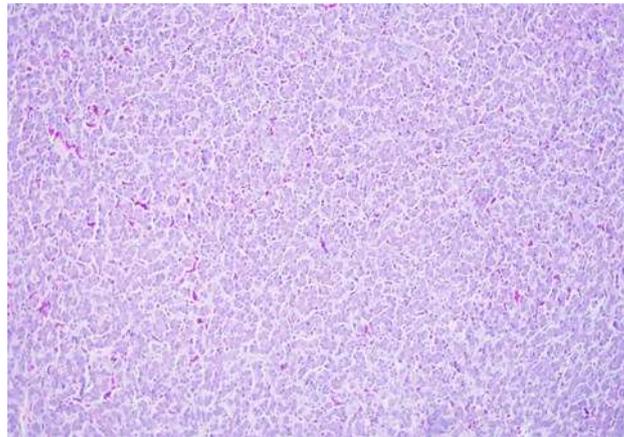


Figura 6. Microfotografia. Fígado morfologicamente normal (HE, 100x).

2.4. Processos patológicos do Fígado

Serão referidos os processos patológicos que mais frequentemente afetam o fígado de frango.

2.4.1. Alterações de pigmentação

Pigmentos hemáticos

Constituem um variado grupo de pigmentos que derivam do metabolismo da hemoglobina. São estes:

- Hemossiderina: é um pigmento hemoglobínico granular e amorfo, castanho amarelado ou dourado. Geralmente observa-se no citoplasma de macrófagos, com maior frequência na medula óssea, baço e fígado e em focos hemorrágicos.

- Pigmentos biliares: O aumento no sangue destes pigmentos (hiperbilirrubinemia) acontece em diferentes doenças, causando a impregnação dos tecidos que adquirem uma

coloração amarelo esverdeada. Quando existe um aumento acentuado de bilirrubina podemos observar pequenos depósitos de pigmentos biliares nos hepatócitos, nos canalículos e ductos biliares (Pires *et al.*, 2004).

Estes pigmentos são compostos fisiológicos, mas que se acumulam no organismo quando em excesso (Pires *et al.*, 2004).

2.4.2. Distúrbios metabólicos e acumulações celulares

Esteatose ou Degenerescência gorda

Esteatose, Degenerescência gorda ou Lipidose Hepática é toda a acumulação excessiva de triglicéridos nas células. Esta acumulação ocorre com maior frequência no fígado, rim e coração e o aspeto macroscópico dos órgãos afetados depende da quantidade de lípidos acumulados nas células (Pires *et al.*, 2004).

Aspeto macroscópico: quando há uma grande deposição de lípidos, os órgãos apresentam aumento de volume, os bordos arredondados, estão mais pálidos, de coloração amarela, brilhantes, friáveis e são untuosos ao tato (Pires *et al.*, 2004).

Aspeto histológico: no fígado, os hepatócitos apresentam vacúolos citoplasmáticos de tamanho variável, vacúolos pequenos e múltiplos (esteatose microvacuolar, em que a célula tem dimensões próximas do normal, o núcleo mantém-se na sua posição normal e raramente ocorre aumento do órgão) ou grandes e únicos, preenchendo por completo o citoplasma (esteatose macrovacuolar), empurrando o núcleo para a periferia da célula. Neste caso as dimensões das células estão muito aumentadas e as do órgão também (Pires *et al.*, 2004).

Os mecanismos que mais contribuem para a acumulação de triglicéridos em excesso no fígado são:

- Entrada excessiva de triglicéridos para o fígado devida a uma dieta rica em gordura ou aumento da mobilização de triglicéridos do tecido adiposo para responder a um aumento das necessidades (gestação avançada, pico de lactação, fome ou distúrbios endócrinos);
- Falta de energia para a oxidação dos ácidos gordos;
- Ingestão de dieta rica em glúcidos;
- Aumento da esterificação de ácidos gordos em triglicéridos, como resposta a um aumento de glucose e insulina;

- Diminuição da síntese de apoproteínas, com conseqüente diminuição da produção e exportação de lipoproteínas;
- Diminuição da secreção de lipoproteínas devido a hepatotoxinas ou drogas (Cullen, 2017).

Fígados gordos são mais vulneráveis por isso, outras agressões e respostas inflamatórias podem ocorrer simultaneamente. Níveis aumentados de ácidos gordos no fígado aumentam o stresse oxidativo e contribuem para a peroxidação lipídica da membrana celular e redução do tempo de vida dos hepatócitos. A síntese e o transporte de lipoproteínas dependem do metabolismo oxidativo, portanto, a hipoxia dos hepatócitos leva a deposição de triglicérides. As duas causas mais comuns de hipoxia hepatocelular são anemia e redução da perfusão sinusoidal na congestão venosa passiva (Cullen, 2017).

A esteatose geralmente é reversível, mas se prolongar no tempo há maior probabilidade de apresentar outras alterações, incluindo fibrose, acúmulo de pigmento e hiperplasia nodular (Cullen, 2017).

Com a técnica histológica de rotina, os depósitos lipídicos acumulados numa célula com esteatose são arrastados pelos líquidos utilizados na desidratação e diafanização, que são dissolventes dos lípidos. Assim, ao observar-se vacúolos citoplasmáticos em hepatócitos, corados com H&E, provenientes de um fígado suspeito de esteatose, não se pode concluir que estes têm lípidos no seu interior (Pires *et al.*, 2004).

2.4.3. Degenerescência e morte celular

Degenerescências Intracelulares

As degenerescências são alterações, morfofuncionais e/ou bioquímicas que ocorrem numa célula após uma agressão. É uma lesão reversível. Geralmente, quando cessa a agressão, a célula retorna ao seu estado normal (Pires *et al.*, 2004).

As células perante uma agressão reagem tentando adaptar-se à situação adversa, por alteração do seu metabolismo. Esta adaptação depende de vários fatores:

- Estado metabólico da célula: quanto mais ativa é uma célula, mais sensível é à agressão; isto explica o porquê de as células do fígado, rim e músculo serem muito sensíveis;

- Localização da célula dentro do órgão: certas células encontram-se mais expostas a agressões: por exemplo pelo deficiente aporte em oxigênio os hepatócitos periacinares são mais sensíveis à hipoxia que os centroacinares;
- Duração e intensidade da agressão;
- Vascularização, oxigenação, pH e temperatura da célula;
- Estrutura celular (Pires *et al.*, 2004).

Após a agressão, determinados fatores, amplificam-na:

- Aumento da pressão: por alteração do fluido intracelular e do desequilíbrio eletrolítico;
- Diminuição do pH: por acumulação de metabolitos, como por exemplo o lactato;
- Aumento do índice metabólico;
- Hipoxia, resultante da diminuição da corrente sanguínea e formação de radicais de oxigênio (Pires *et al.*, 2004).

Na Figura 7, observamos os diferentes tipos de degenerescências intracelulares: tumefação celular, degenerescência hidrópica e degenerescência vacuolar.

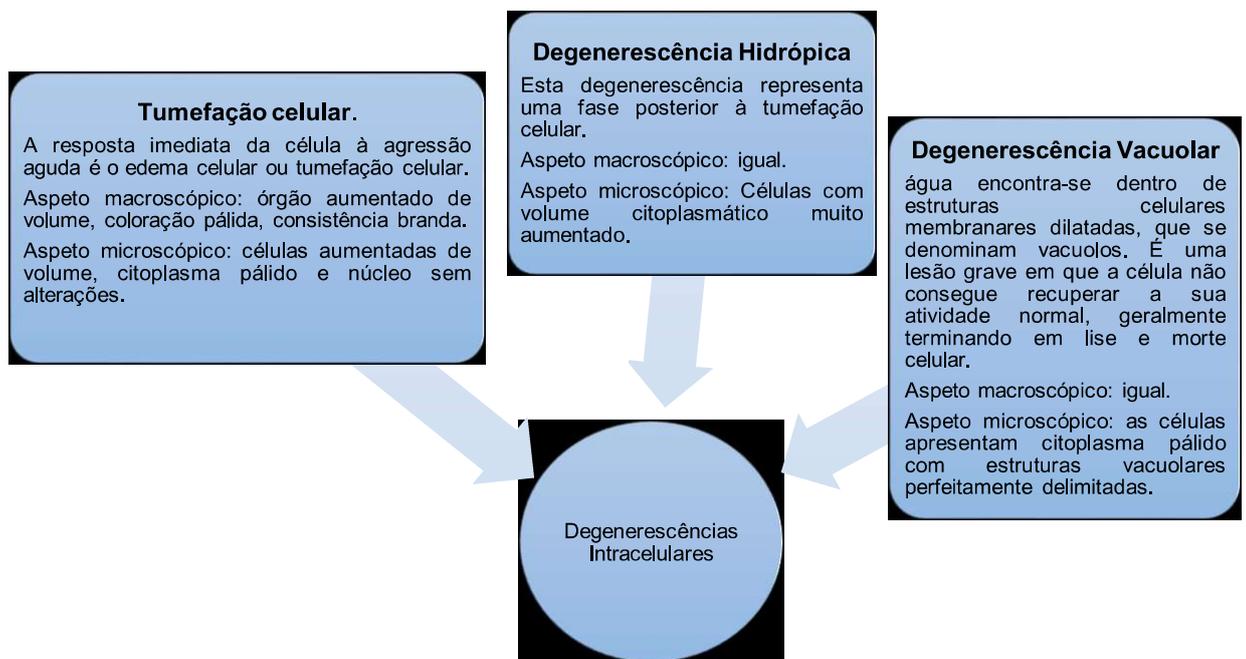


Figura 7. Tipos de degenerescências intracelulares adaptado de Pires *et al.*, 2004.

Morte Celular

A morte celular divide-se em dois processos distintos. Por um lado, a necrose, em que a célula está túrgida, há destruição dos vários organelos e rotura da membrana plasmática. Por outro lado, a apoptose ou morte celular programada, que deixa a célula retraída, mas com a membrana intacta (Cullen, 2017).

A necrose é um tipo de morte celular que pode ocorrer ao longo da vida de um indivíduo, antes do período normal de renovação celular. Macroscopicamente, o tecido necrosado está pálido, friável e bem delimitado do tecido saudável adjacente (Pires *et al.*, 2004).

Quanto à apoptose, é um mecanismo celular auto-destrutivo, determinado geneticamente e em que há gasto de energia, pela célula, para se destruir. Este processo incide sobre células isoladas, distinguindo-se por isso da necrose e não desenvolve reação inflamatória. Ao microscópio, uma célula que sofre apoptose perde a conexão com as células vizinhas, tem volume diminuído e forma destorcida (Pires *et al.*, 2004).

2.4.4. Padrões de morte celular

Necrose focal

As lesões são microscópicas ou dificilmente visíveis a olho nu. A designação de necrose focal deriva do pequeno tamanho da lesão e de uma localização específica no lóbulo hepático. A necrose focal de tecido hepático pode ser consequência de várias infeções, migrações parasitárias, obstrução biliar, pelo que pode ter a designação de hepatite necrótica focal (Stalker & Hayes, 2007).

Necrose zonal

Dependendo da localização nos lóbulos hepáticos de áreas multifocais a coalescentes de necrose, podemos ter necrose na zona centrolobular, na zona média e na zona periportal.

A forma mais comum de necrose zonal é a necrose centrolobular, isto acontece porque os hepatócitos desta zona são bastante vulneráveis, uma vez que são os mais distantes da artéria hepática e veia porta, que transportam oxigénio e nutrientes. Para além disso, estes hepatócitos são os que contêm maior concentração de citocromo P450, que transforma algumas substâncias exógenas em metabolitos reativos, capazes de lesar ou matar hepatócitos (Stalker & Hayes, 2007).

Animais anêmicos e com congestão passiva do fígado podem também apresentar necrose centrolobular (Stalker & Hayes, 2007).

A necrose da zona média do lóbulo hepático é rara e pode resultar de alguns tipos de intoxicações, afetando apenas uma fiada bem delimitada de hepatócitos (Stalker & Hayes, 2007).

A necrose da zona periportal do lóbulo hepático pode resultar da ação direta de hepatotoxinas. Embora rara, esta necrose é mais comum que a anterior (Stalker & Hayes, 2007).

2.4.5. Inflamações do fígado

Doença aguda

O fígado é um órgão-alvo de agentes infecciosos e processos degenerativos, pelo que desenvolve respostas inflamatórias que são designadas por hepatites (Cullen, 2017).

A hepatite aguda é caracterizada pela existência de lesões degenerativas e necróticas, focais ou difusas, acompanhadas de congestão e infiltração celular inflamatória. O tipo de células de reação inflamatória envolvidas varia consoante a causa da inflamação, a resposta do animal e o estado da lesão (Cullen, 2017).

As alterações macroscópicas do órgão diferem consoante o processo é focal ou multifocal. Nas hepatites agudas focais o fígado está pouco ou nada hipertrofiado e apresenta manchas claras, que correspondem às zonas de necrose. Nas hepatites multifocais o volume está bastante aumentado e a víscera apresenta-se congestionada (Cullen, 2017).

Infiltrados leucocitários na hepatite multifocal tendem a se acumular principalmente nas proximidades dos tratos portais, ao redor dos principais ductos biliares ou, às vezes, na cápsula e ao redor das veias centrais (Cullen, 2017).

Hepatite aguda também inclui infeções virais hepatotrópicas, embora as lesões sejam caracterizadas principalmente por necrose hepatocelular ou apoptose, e não pela resposta inflamatória ao agente (Cullen, 2017).

No entanto, em respostas nas quais hepatócitos necróticos únicos induzem uma resposta neutrofílica moderada, o termo hepatite é menos apropriado porque o padrão de lesão é principalmente degenerativo (Cullen, 2017).

Doença crónica

A hepatite crónica é um processo inflamatório arrastado, resultante da persistência do agente agressor (Stalker & Hayes, 2007).

2.4.6. Alterações circulatórias

A causa mais comum de congestão hepática difusa é a insuficiência cardíaca. A congestão venosa passiva do fígado denota elevação da pressão nas veias e vênulas hepáticas em relação à pressão nas vênulas portais. Isso pode ser devido à insuficiência cardíaca congestiva como resultado de doença cardíaca congénita ou adquirida ou doença pericárdica, ou, muito menos frequentemente, à obstrução parcial das veias hepáticas maiores ou veia cava caudal por abscesso, neoplasia ou trombo (Cullen 2017).

A congestão passiva aguda ocorre quando o fígado é repentinamente ingurgitado com sangue como resultado de anafilaxia, choque ou outra agressão. Nos estágios iniciais, o fígado está tumefacto e escuro, há fluido abdominal excessivo, tingido de sangue, pois o fígado congestionado tem uma taxa aumentada de produção de linfa (Cullen, 2017).

2.5. Fatores de Stresse em frango Industrial

O stresse pode ocorrer nos animais desde a exploração até ao matadouro. Os efeitos do stresse no estado comportamental e fisiológico e na qualidade final da carne estão bem documentados. No entanto, os estudos sobre o mecanismo do stresse nas mudanças fisiológicas e bioquímicas nos frangos e os seus respetivos efeitos nos atributos de qualidade da carne têm sido limitados e desconhecidos (Xing *et al.*, 2019).

Os principais fatores de stresse são:

- stresse por calor;
- stresse pelos procedimentos pré-abate;
- stresse oxidativo.

Estes fatores podem estimular o sistema neuro endócrino e afetar as funções imunológicas e metabólicas, levando a alterações bioquímicas e metabólicas no período *post-mortem* inicial (Xing *et al.*, 2019).

Em frangos, o stresse aumenta as concentrações circulantes de corticosterona. Uma das funções da corticosterona é o aumento do metabolismo lipídico. Os glucocorticoides aumentam a deposição de gordura no tecido adiposo abdominal, cervical, no fígado e no músculo esquelético, por exemplo, músculo do peito (Cai *et al.*, 2009).

Existem várias respostas fisiológicas ao stresse, por isso não se deve presumir que apenas um parâmetro seja medido para determinar o stresse, independentemente de se tratar das concentrações plasmáticas de corticosterona ou de qualquer outra hormona ou da razão Heterófilos: Linfócitos ou de uma resposta comportamental (Scanes, 2016).

2.5.1. Stresse por calor

Para todas as espécies, as suas reações às mudanças ambientais associadas à temperatura, especialmente ao stresse térmico, são cruciais (Gregory, 2005).

Segundo Gregory (2005), casos de mortalidade relacionada ao stresse térmico ocorreram em rebanhos, incluindo mortes causadas por calor em veados durante o transporte, antes do abate, em ovelhas expostas ao sol e altas taxas de mortalidade na chegada em bovinos e aves expostos ao transporte sob alta temperatura ambiente.

Além disso, o stresse por calor também afeta os atributos de qualidade e segurança da carne (Xing *et al.*, 2019).

O risco de contaminação da carcaça com *Escherichia coli* e *Salmonella* em aves e suínos pode aumentar durante o stresse térmico sazonal (Gregory, 2005).

2.5.2. Stresse pelos procedimentos pré-abate

As condições de manuseamento pré-abate, descritas na Figura 8 são um fator essencial que contribui para a qualidade da carcaça e da carne sem defeitos. O manuseamento de animais antes do abate, deve ter em consideração o tipo, a espécie, a raça e a idade deles (Adzitey, 2011).

Além disso, a forma como os animais são transportados desde a exploração, durante o transporte, até ao matadouro pode expô-los a várias situações de stresse representadas na Figura 8, como contusões, ferimentos, fome, cansaço, privação de água e comida, manipulação na carga e descarga dos veículos (Adzitey, 2011).

Procedimentos incorretos durante o pré-abate podem levar a morte de animais, danos na carcaça, redução no peso vivo, carnes PSE (pálidas, moles e exsudativas) e comprometimento do bem-estar animal (Adzitey, 2011).

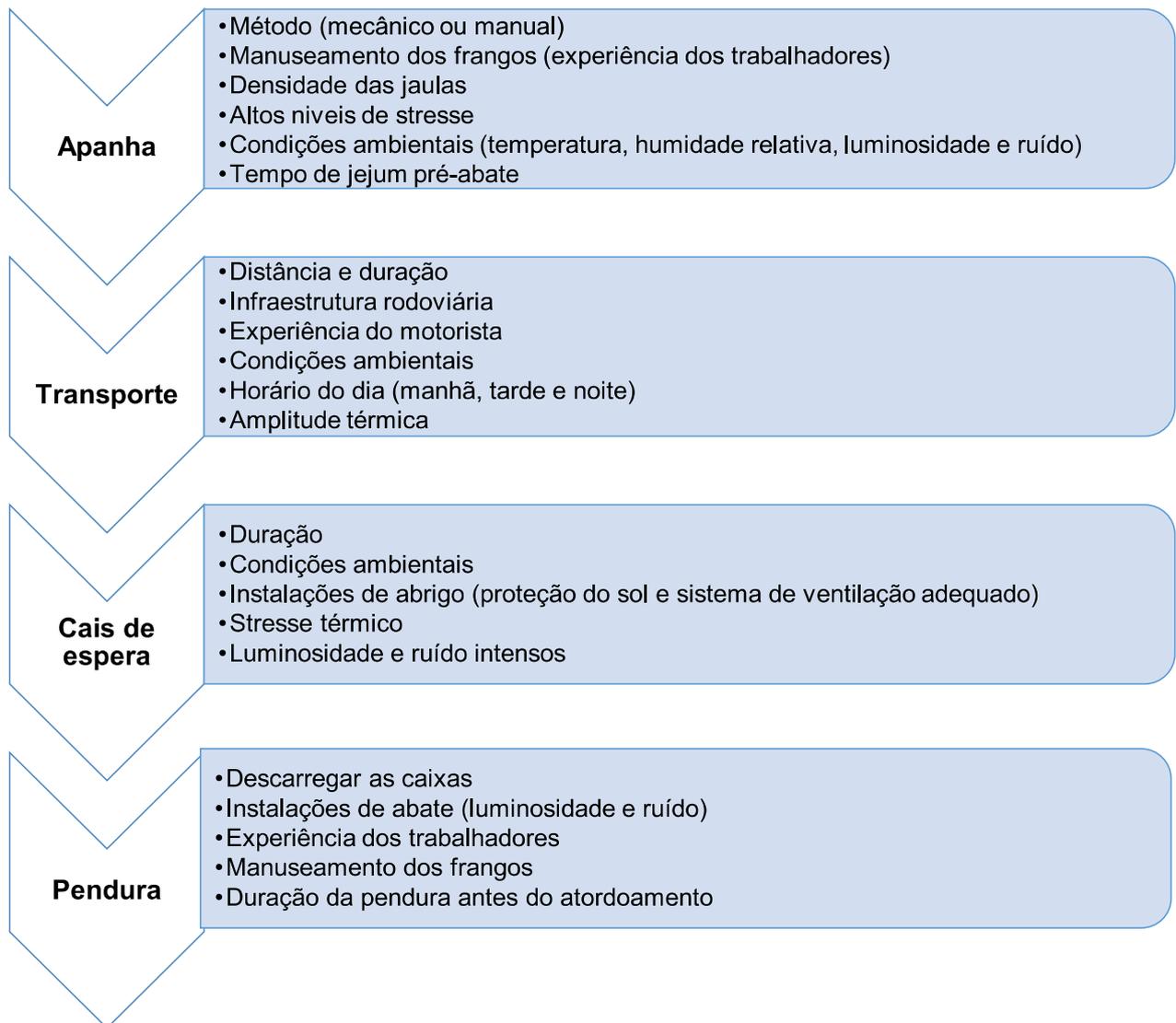


Figura 8. Fluxograma dos principais fatores causadores de stress nos frangos industriais durante as fases das operações de pré-abate adaptado de Benincasa *et al.* (2020).

Huang *et al.* (2018) demonstrou que durante o pré-abate os fatores exemplificados na Figura 8 causaram stresse aos frangos industriais, o que aumentou o nível de corticosterona plasmática, a atividade da creatina quinase e da lactato desidrogenase. Esses fatores aceleraram a depleção de energia, a concentração de lactato e o consequente declínio do pH da carne de peito de frango e a redução da sua capacidade de retenção de água, no início da fase *post mortem* do frango.

Os animais não devem ser deixados mais de 24 horas sem alimentação e água durante o pré-abate para evitar que eles morram de fome e desidratação (Huang *et al.*, 2018).

Tempo de jejum pré abate prolongado pode levar ao esgotamento do glicogénio muscular e a uma redução de peso (Huang *et al.*, 2018).

Segundo Benincasa *et al.* (2020) o período pré-abate pode afetar o bem-estar das aves em diferentes aspetos e níveis de severidade, uma vez que cada estágio deste período pode ser prejudicial e ter um certo grau de influência. Portanto, é importante desenvolver indicadores para a rápida identificação de múltiplos problemas relacionados com stresse e assim controlar as perdas de produção na avicultura moderna.

2.5.3. Stresse oxidativo

Um excesso de radicais livres desencadeia o stresse oxidativo, levando a efeitos prejudiciais nas biomacromoléculas celulares, como proteínas e lípidos (Fellenberg & Speisky, 2006).

O stresse oxidativo constitui um importante mecanismo que leva a danos biológicos e tem sido apontado como a causa de diversos problemas degenerativos de saúde, que afetam o desempenho geral e a produtividade dos bandos (Fellenberg & Speisky, 2006).

Os radicais livres acumulados em resposta ao stresse oxidativo prejudicam a membrana celular e a integridade mitocondrial por meio da peroxidação lipídica, o que aumenta consideravelmente o risco de reações oxidativas no *post mortem* da carcaça e respetivas vísceras (Estévez, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Centro de Abate

No decurso da componente prática desta dissertação, foram acompanhados dois diferentes turnos de abate durante três meses, nomeadamente:

- o primeiro turno da madrugada (00h00 às 04h00);
- o último turno da tarde (14h00 às 18h00).

Em ambos os turnos acompanhou-se a atividade do Médico Veterinário Oficial (MVO) e procedeu-se adicionalmente à recolha de informação relativa a cada lote de frangos, resumidamente apresentada na Figura 9. No total foram analisados 1 167 884 frangos pertencentes a 199 cargas.

Através da avaliação da IRCA foi possível registar a identificação do lote, o nome da exploração, o número de frangos da carga, a idade dos frangos em dias, o estatuto sanitário do bando, o resultado dos exames do Plano Nacional do Controlo de Salmonela (PNCS), a medicação administrada e os respetivos intervalos de segurança, a taxa de mortalidade acumulada (TMA) e a hora de início da apanha e hora de fim da apanha.

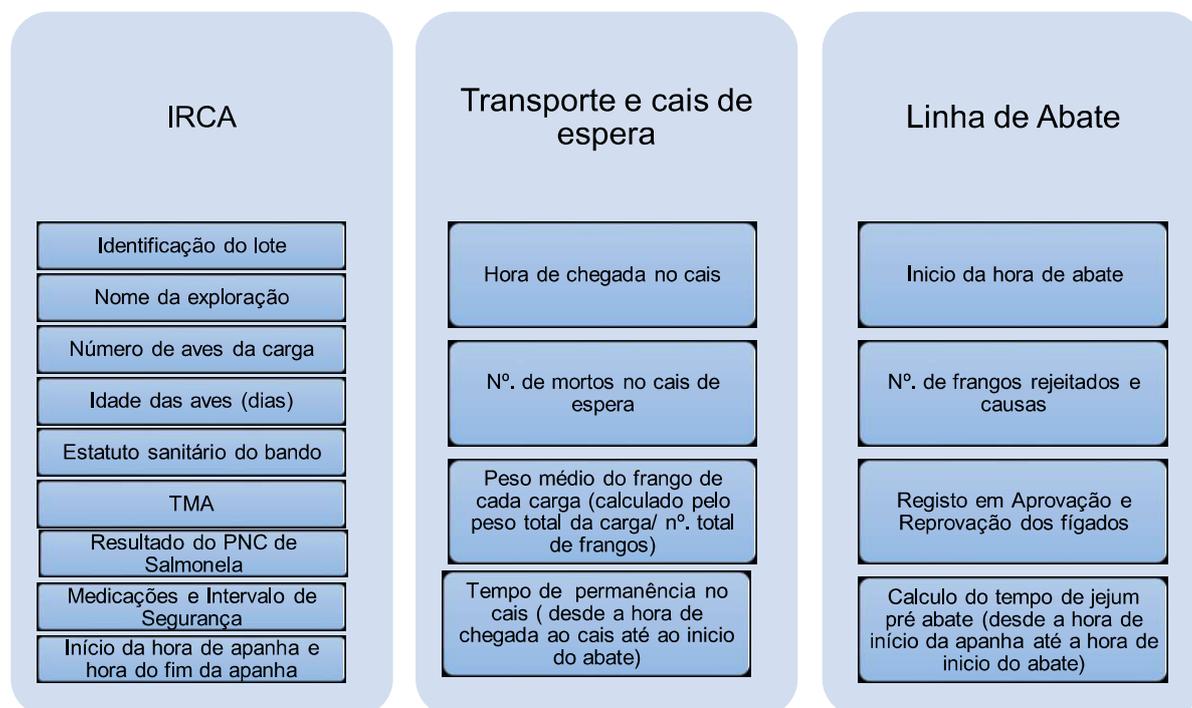


Figura 9. Informação recolhida em cada lote de frango industrial analisado. Legenda: TMA – Taxa Mortalidade Acumulada, PNC – Plano Nacional de Controlo, Nº- Número.

A hora de chegada do transporte ao centro de abate, obtida pelos registos do matadouro era avaliada. O peso médio dos frangos, era calculado pela divisão do peso total da carga e o número total de frangos na carga.

No decurso do acompanhamento da inspeção *ante mortem*, eram contabilizados, o número de frangos mortos retirados das caixas de transporte, no cais de espera, antes da hora de abate.

O tempo de permanência de cada lote no cais era obtido pelo cálculo da diferença entre a hora de chegada do transporte ao matadouro e a hora de início de abate.

3.1.1. Inspeção *post mortem*

No decurso do acompanhamento do MVO no exame *post mortem*, desde o início até ao fim de abate de cada carga de frango, registava-se a hora de início de abate de cada carga assim como as causas de rejeição total de cada lote.

As causas de rejeição total de cada lote eram classificadas de acordo com os códigos disponíveis no Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (SIPACE), nomeadamente:

- Caquexia
- Estado Febril
- Sangria Insuficiente
- Ascite
- Celulite
- Pericardite
- Peritonite
- Conspuração generalizada
- Traumatismos mecânicos
- Dermatite
- Perihepatite
- Hepatite granulomatosa

- Hepatite focal necrótica

Outra atividade da inspeção *post mortem* realizada pelo MVO e devidamente registada, era a classificação em Aprovados e Rejeitados, dos fígados de cada lote de frango.

Procedia-se também ao registo das principais causas de rejeição dos fígados.

Para além do acompanhamento da atividade de inspeção *post mortem*, eram ainda analisados individualmente, 10 fígados rejeitados por lote, representativos da principal causa de rejeição, e avaliados nos seguintes parâmetros:

- Cor do fígado: normal, amarelada, esverdeada;
- Tamanho do fígado: normal, aumentado, diminuído;
- Textura do fígado: normal, friável, denso;
- Outras alterações (ex.: focos de necrose, petéquias, entre outras).

No final do abate de cada carga, era realizado o cálculo do tempo de jejum pré abate. O cálculo era obtido pela diferença entre a hora de início da apanha da carga e a hora de início do abate, ou seja, era o somatório da duração da apanha, com a duração do transporte e o tempo de permanência do cais.

3.1.2. Medições e pesagens de Fígado e Vesícula Biliar de Frango Industrial

Durante um mês realizou-se em cada turno de abate e em dois lotes diferentes, a recolha, por lote, de uma média de 20 fígados e restante sistema digestivo dos frangos (Figura 10), para uma análise mais detalhada destes órgãos. No total foram analisados 860 fígados pertencentes a 43 lotes.

Em cada lote depois da recolha, procedia-se a identificação dos fígados de cada lote para mais tarde recolher a restante informação. A seguir, realizava-se a pesagem com uma balança do seguinte conjunto de vísceras:(esófago, papo, moela, fígado, vesícula biliar e intestinos) como está representado na Figura 10. Depois separava-se o fígado e os intestinos, e pesava-se individualmente cada um.



Figura 10. Imagem ilustrativa do sistema digestivo do frango que foi utilizado para ser pesado na sua totalidade.

As medições do fígado e vesícula biliar eram realizadas depois da pesagem. Media-se o comprimento e a largura em cm do fígado e vesícula biliar com o auxílio de uma régua, como se pode observar na figura 11.



Figura 11. Imagem ilustrativa de como foi realizada a medição do comprimento (C) e largura (L) em cm do fígado e da vesícula biliar.

3.2. Análise Histopatológica

Foram recolhidas 50 amostras das lesões representativas dos fígados rejeitados, com dimensões aproximadas de cada uma delas de 4 cm x 4cm x 4cm (comprimento x largura x altura):

- 20 de fígados com alterações de consistência, friáveis;

- 10 de fígados com alterações macroscópicas compatíveis com esteatose hepática (Fígados amarelados, bordos arredondados e volume aumentado);
- 5 de fígados com alterações macroscópicas compatível com Hepatite Granulomatosa (Fígados com volume aumentado e focos esbranquiçados e esverdeados multifocais a coalescentes);
- 5 de fígados com alteração macroscópica compatível com Hepatite Necrótica focal (Fígados com focos esbranquiçados focais);
- 5 de fígados com alteração macroscópica compatível com peri hepatite fibrinosa (Fígados com exsudado fibrinoso sob a forma de película na superfície);
- 5 de fígados com alteração de cor, escuros com tonalidade esverdeada.

Adicionalmente, recolheu-se cinco amostras de fígado aprovadas sem alterações macroscópicas para serem amostras padrão, isto é, amostra que serviu como controlo de fígado normal.

As amostras foram colocadas dentro de frascos, devidamente identificados, mergulhadas em formol a 10 %, como está exemplificado na Figura 12, com volume superior ao da amostra para melhor fixação e enviadas para análise histopatológica para o Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD).



Figura 12. Imagem ilustrativa da recolha de amostras de fígados com alterações macroscópicas.

Fez-se o registo fotográfico das alterações de coloração de fígado, assim como de alterações lesionais e de textura.

No laboratório de Anatomia Patológica as amostras recebidas, são processadas por inclusão por parafina e é efetuado cortes no micrótomo (3 a 5 µm de espessura). A amostra era depois colocada numa lâmina e corada, com a técnica de coloração da Hematoxilina & Eosina. Procedeu-se depois a análise histopatológica por observação da amostra num microscópio de luz.

3.3. Tratamento estatístico dos dados

Os dados recolhidos e os resultados obtidos no estudo foram registados e processados em folhas de cálculo do Microsoft Office Excel® 2013.

Após a recolha dos dados do estudo foi necessário efetuar o tratamento de dados recolhidos, para responder a esse objetivo, foi utilizado o programa informático Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 25.0 para Windows.

Foram utilizadas técnicas de estatística com o intuito de responder às questões de investigação através dos testes das hipóteses formuladas, recorremos à análise inferencial dos Coeficientes de Correlação de Pearson, assim como o teste paramétrico da ANOVA One Way.

Relativamente à correlação de Pearson pode dizer-se que mede o grau de associação ou de relação linear mútua entre duas variáveis ordinais ou sem distribuição normal. De acordo com Pestana e Gageiro (2014), o coeficiente de correlação situa-se no intervalo $-1 \leq r \leq 1$. O sinal negativo da correlação significa que as variáveis variavam em sentido contrário, isto é, as categorias mais elevadas de uma variável estavam associadas a categorias mais baixas da outra variável.

No estudo da comparação dos grupos, foi usado o teste paramétrico F da Anova One Way que permite verificar se existe diferenças entre os grupos. Para o efeito devem ser considerados os valores das médias dos vários grupos e respetivos desvios padrões. O valor F corresponde ao valor das diferenças (valor da Anova One Way).

Para todos os testes foi utilizado um nível de significância inferior a 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante 90 dias foram observados 1 167 884 frangos correspondentes a 199 lotes, nos quais 1 154 449 foram aprovados e 14 435 (1%) foram rejeitados como se pode verificar no Gráfico 2. Estes valores estão de encontro com os valores fornecidos pela DGAV (2020) no qual no ano de 2019, dos 204 343 841 frangos abatidos a nível nacional, apenas 2 188 173 foram rejeitados, ou seja, houve 1% de rejeição.



Gráfico 2. Número e percentagem de frangos observados que foram aprovados e rejeitados na inspeção *post mortem*.

Dos 1 167 789 fígados analisados, 742 179 (64%) foram aprovados, enquanto que 425 705 (36 %) foram rejeitados, como se pode observar no Gráfico 3.



Gráfico 3. Número e percentagem de fígados observados que foram aprovados e rejeitados.

Como observado anteriormente, no Gráfico 3, 36% dos fígados foram rejeitados, nos quais foram identificadas diversas alterações macroscópicas associadas que se encontram representadas no Gráfico 4.

Dos 425 705 fígados rejeitados:

- 293 244 dos fígados (68,89 %) tinham alterações de consistência (friáveis);
- 131 156 dos fígados (30, 81 %) tinham lesões compatíveis com esteatose hepática;
- 875 dos fígados (0,21 %) tinham alteração de cor (mais escuros com tonalidade esverdeada);
- 204 dos fígados (0,05 %) tinham lesões compatíveis com hepatite necrótica focal;
- 143 dos fígados (0,03%) tinham lesões compatíveis com hepatite granulomatosa;
- 83 dos fígados (0,02%) tinham Peri-hepatite fibrinosa.

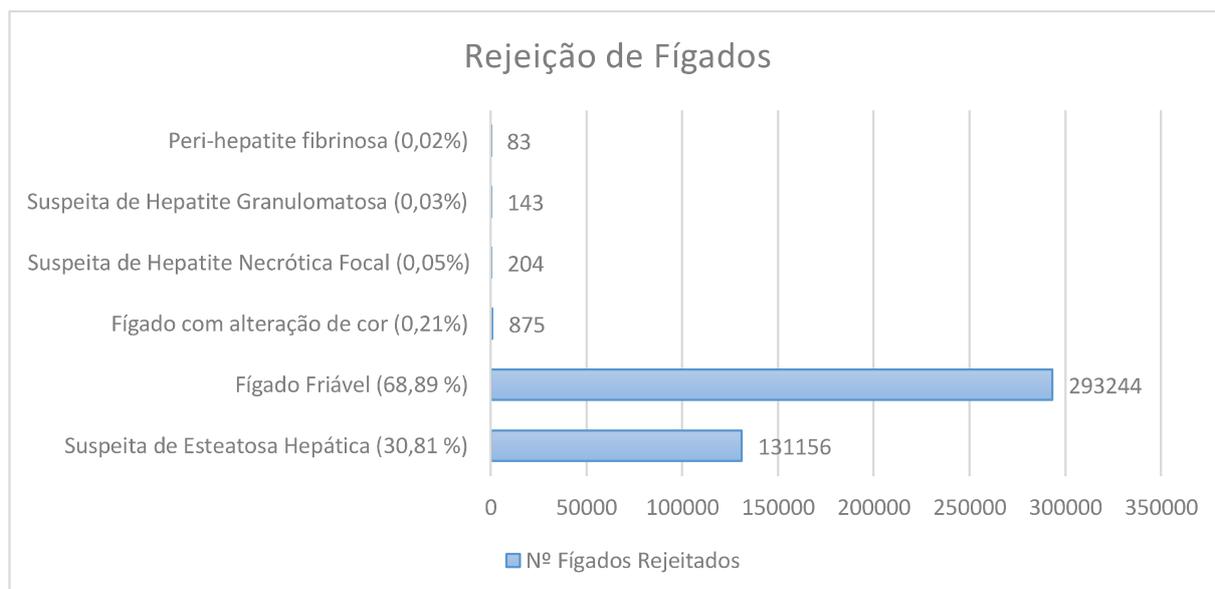


Gráfico 4. Número e percentagem dos fígados rejeitados de cada causa observada na inspeção *post mortem*.

Das alterações macroscópicas do fígado acima referidas, três delas levaram à rejeição total do frango (alteração macroscópica compatível com hepatite necrótica focal, alteração macroscópica compatível com hepatite granulomatosa e peri-hepatite fibrinosa).

As restantes alterações macroscópicas (alteração de consistência, alteração macroscópica compatível com esteatose hepática e alteração de cor) apenas levaram à rejeição parcial do fígado.

4.1. Causas de rejeição total do frango devido a alterações hepáticas

No total dos frangos rejeitados *post mortem* foram observados 430 casos (3 %) associados a alterações hepáticas, como está representado no Gráfico 5.

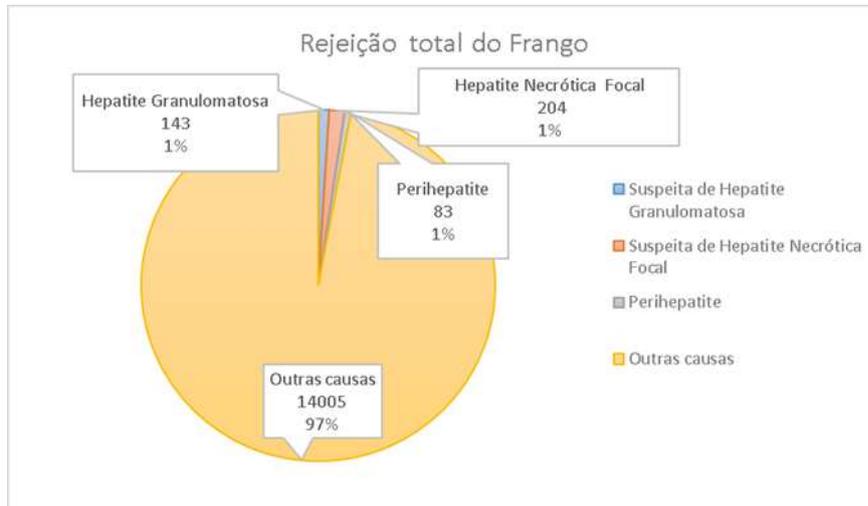


Gráfico 5. Número e percentagem de frangos observados com rejeição total da carcaça por alterações macroscópicas do fígado.

As alterações macroscópicas do fígado que condicionaram uma rejeição total da respetiva carcaça foram:

- Lesão compatível com hepatite focal necrótica (204 frangos);
- Lesão compatível com hepatite granulomatosa (143 frangos);
- Peri-hepatite fibrinosa (83 frangos).

4.1.1. Fígado com suspeita de Hepatite Necrótica Focal

Dos fígados rejeitados, 0,05 % apresentavam lesões macroscópicas compatíveis com Hepatite Necrótica Focal (Gráfico 4). Essas lesões eram caracterizadas por alguns focos esbranquiçados aleatórios espalhados pela superfície, como se pode observar na Figura 13. Foram enviadas 5 amostras para análise histopatológica, que confirmou o diagnóstico macroscópico. No exame microscópico observaram-se focos de necrose hepática, por vezes coalescentes, como podemos ver na Figura 14.



Figura 13. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis com Hepatite Necrótica Focal.

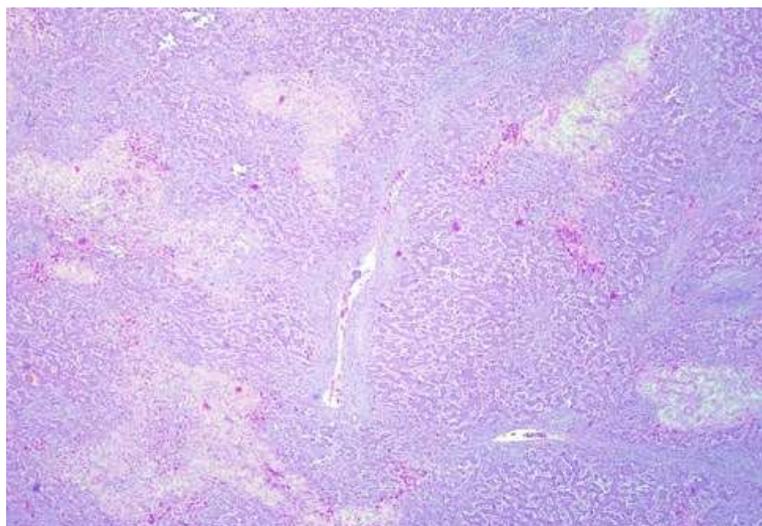


Figura 14. Microfotografia da Análise Histopatológica com diagnóstico de Hepatite Necrótica Focal (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados com suspeita de Hepatite Necrótica Focal e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 3).

Observou-se que não existe uma relação estatisticamente significativa, entre a rejeição de fígados com suspeita de Hepatite Necrótica Focal e qualquer uma das variáveis. Em todas elas $p > 0,05$, logo não há significância estatística.

Tabela 3. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Hepatite Necrótica Focal com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote (Dias)	Peso médio do lote (Kg)	Tempo de jejum pré abate (Minutos)	Tempo de espera no cais (Minutos)
% Hepatite Necrótica Focal	r	-0,083	0,137	-0,043	-0,110	-0,083
	p	0,246	0,053	0,544	0,123	0,245
	Média	12:31	35,91667	1,868462	612,0833	401
	Desvio Padrão	5,558546	5,230302	0,385094	132,8269	165,001

Pontos brancos e/ou áreas mais claras na superfície do fígado (Figura 13) podem sugerir infecção bacteriana, parasitárias ou ter etiologia tóxica, sendo a causa confirmada pela análise microbiológica e histopatológica (Bordin, 1978).

Os processos septicêmicos que afetam os frangos determinam graus variáveis de comprometimento hepático, de modo que só a observação de alterações macroscópicas do fígado, não permite individualizar uma doença específica, necessitando de mais exames complementares (Bordin, 1978).

Um dos exemplos de etiologia de fígados com alterações macroscópicas compatíveis com hepatite necrótica focal, segundo Lemos *et al* (2015) é *Campylobacter spp.*

No estudo de Lemos *et al.* (2015), *Campylobacter spp.* foi isolado em 80,9% das amostras de fígado com lesões focais necróticas, em que análise histopatológica confirmou essas mesmas lesões. Estes resultados indicam que o fígado de frango é uma potencial fonte de infecção por *Campylobacter* para o consumidor, uma vez que esta bactéria pode permanecer viável no tecido hepático interno em condições de carne mal cozinhada.

4.1.2. Fígado com suspeita de Hepatite Granulomatosa

Dos fígados rejeitados, 0,03%, apresentavam lesões compatíveis com Hepatite Granulomatosa (Gráfico 4). Essas lesões eram caracterizadas por volume aumentado e por focos esbranquiçados e esverdeados multifocais a coalescentes na superfície como se pode observar na Figura 15 e na Figura 16.



Figura 15. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis Hepatite Granulomatosa.



Figura 16. Fígado com lesões macroscópicas compatíveis Hepatite Granulomatosa.

Foram enviadas 5 amostras, para análise histopatológica, em que o diagnóstico foi compatível com a suspeita inicial de hepatite granulomatosa. A análise histopatológica revelou fígado com focos de necrose multifocais aleatórios, com envolvimento por heterófilos e células gigantes multinucleadas, por vezes dispostas em paliçada, como exemplificado na Figura 17.

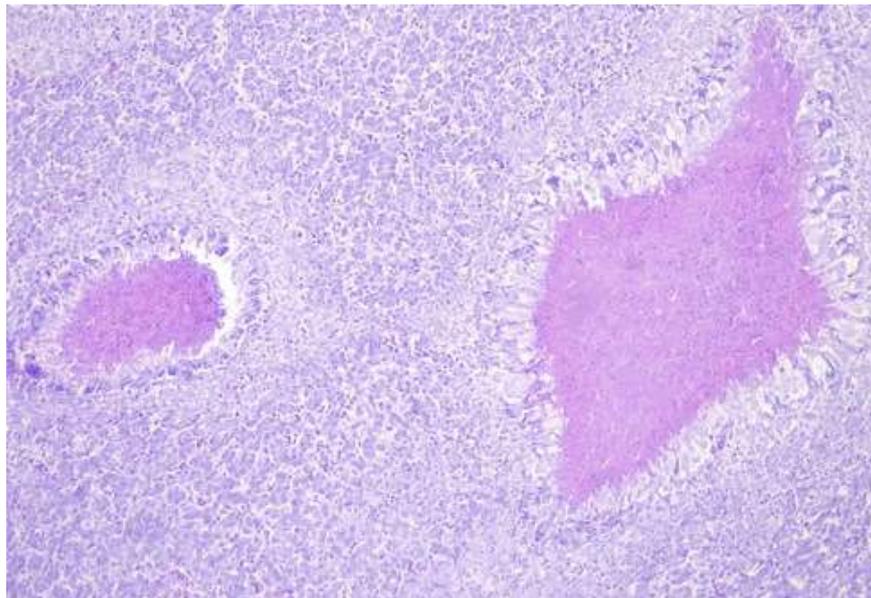


Figura 17. Microfotografia da Análise Histopatológica compatível com Hepatite Granulomatosa (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados com suspeita de Hepatite Granulomatosa e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 4).

Observou-se que não existe uma relação estatisticamente significativa, entre a rejeição de fígados com suspeita de Hepatite Granulomatosa e qualquer uma das variáveis. Em todas elas $p > 0,05$, logo não há significância estatística.

Tabela 4. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Hepatite Granulomatosa com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote (dias)	Peso médio do lote (Kg)	Tempo de jejum pré abate (Minutos)	Tempo de espera no cais (Minutos)
% Hepatite Granulomatosa	r	-0,020	0,054	-0,037	-0,048	-0,029
	p	0,781	0,449	0,603	0,502	0,689
	Média	11:08	34,26667	1,804667	522,4667	353,2
	Desvio Padrão	6,80546	6,215955	0,475873	215,1955	228,2027

Uma das etiologias possíveis para alterações macroscópicas compatível com Hepatite Granulomatosa, seria uma infecção por *Escherichia coli* (*E.coli.*) como se pode observar no estudo realizado por Oliveira, F.R. *et al.* (2014).

Oliveira, F. R. *et al.* (2014) concluiu no seu estudo que oitenta por cento (80%) das lesões hepáticas como aumento de volume com bordas arredondada e necrose focal disseminada eram compatíveis com colibacilose. Destas 80 %:

-Cinquenta e seis por cento (56%) eram lesões agudas, em que a análise histopatológica apresentava múltiplos focos inflamatórios, caracterizados pela invasão de heterófilos.

-Vinte e quatro por cento (24%) eram lesões granulomatosas.

Borges (2006) e Huq (2002) também observaram as mesmas alterações (focos de necrose circundados por heterófilos), que classificaram como pertencentes a quadros de colispeticemia. Segundo Borges (2006) as características de coloração esbranquiçada e de endurecimento é conferida pela calcificação distrófica que acompanha a maioria dos casos.

A colibacilose é principalmente uma doença que ocorre quando as aves estão stressadas ou infetadas com outras doenças, que suprimem o sistema imunológico. *E. coli*, é um comensal normal do trato gastrointestinal, que encontra possibilidades de multiplicação e

altera a saúde das aves quando elas estão predispostas ao stresse. Deve-se ter cuidado para prevenir a doença, mantendo medidas estritas de biossegurança (Panth, 2019).

Para um diagnóstico conclusivo de colibacilose, era necessária uma análise microbiológica, que confirmasse, a presença de *E. coli* nas amostras de fígado com lesões compatíveis com Hepatite Granulomatosa.

4.1.3. Peri-hepatite fibrinosa

Dos fígados rejeitados, 0,02% apresentavam lesões macroscópicas de peri-hepatite fibrinosa (Gráfico 4). Essas lesões macroscópicas eram caracterizadas por um exsudado fibrinoso em forma de película na superfície como se pode observar na s Figuras 18 e 19.



Figura 18. Fígado com Peri-hepatite fibrinosa.



Figura 19. Fígado com Peri-hepatite fibrinosa.

Foram enviadas 5 amostras para análise histopatológica, em que o diagnóstico histopatológico confirmou a peri-hepatite fibrinosa. Na análise histopatológica foi observado um espessamento da cápsula com deposição de fibrina como está exemplificado na Figura 20.

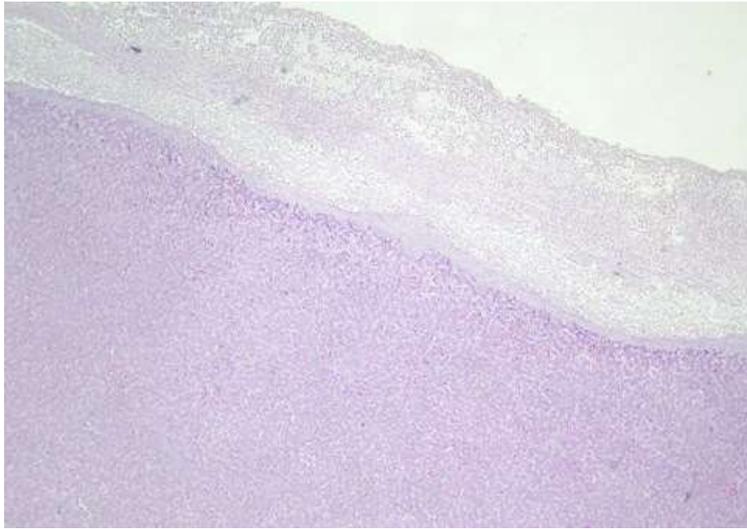


Figura 20. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de Peri-hepatite fibrinosa (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados com peri-hepatite fibrinosa e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 5).

Tabela 5. Relação da % fígados rejeitados com peri-hepatite fibrinosa com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote	Peso médio do lote	Tempo de jejum pré abate	Tempo de espera no cais
% Peri-hepatite fibrinosa	r	-0,064	0,023	-0,039	-0,053	-0,039
	p	0,372	0,746	0,580	0,460	0,585
	Média	10:38	33,625	1,8225	536,875	359,75
	Desvio Padrão	7,049569	2,774244	0,21117	202,3776	222,6931

Observou-se que não existe uma relação estatisticamente significativa, entre a rejeição de fígados com peri-hepatite fibrinosa com qualquer uma das variáveis. Em todas elas $p > 0,05$, logo não há significância estatística.

Nakamura *et al.* (1985), realizou um estudo, em que os frangos analisados apresentavam alterações macroscópicas e histopatológicas similares as lesões compatíveis com peri-hepatite deste estudo.

Segundo Nakamura *et al.* (1985), 48 de 134 frangos, foram diagnosticados com colibacilose. Macroscopicamente esses frangos apresentavam no pericárdio, epicárdio, peritoneu, sacos aéreos, mesentério e superfície do fígado um espessamento com exsudado fibrinoso. A análise histopatológica dividiu a colibacilose em dois tipos de lesões:

- septicemia aguda (7 de 48 frangos), em que o fígado apresentava trombos fibrinosos nos sinusóides do fígado;

- serosite subaguda (41 de 48 frangos), em que o fígado apresentava na sua superfície grande quantidade de exsudado fibrinoso e celular e alterações granulomatosas.

Colibacilose é caracterizada na sua forma aguda por septicemia resultando em morte e na sua forma subaguda por pericardite, perihepatite, saculite aérea e outras lesões. A presença de exsudações na cavidade peritoneal (abdominal), incluindo soro e fibrina são características. A fibrina é o produto da resposta inflamatória do frango que é vista cobrindo as superfícies de vários órgãos, incluindo o oviduto, o ovário, o intestino, os sacos aéreos, o coração, os pulmões e o fígado (Linden, 2015 e Panth, 2019).

Para diagnóstico definitivo era necessária uma confirmação por análise microbiológica.

4.2. Causas de rejeição parcial do fígado

Conforme pode ser observado no Gráfico 4, as três principais causas de rejeição de fígado, observadas incluíam alteração de consistência/fígados friáveis (68,89 %), fígados com alterações macroscópicas compatíveis com esteatose hepática (30,81 %) e fígados com alteração de cor (escuros com tonalidade esverdeada) (0,21 %).

4.2.1. Fígado Friável

Dos fígados rejeitados, 68, 89%, a maior causa de rejeição de fígados neste estudo, apresentavam alterações macroscópicas como a alteração de consistência, mais friáveis, como se observa na Figura 21. Alguns apresentavam alteração de cor, mais pálidos.



Figura 21. Fígado com consistência friável.

Foram enviadas 20 amostras para análise histopatológica, em que o diagnóstico histopatológico indicou hepatite aguda, o que não vai de acordo com as lesões macroscópicas encontradas. A análise histopatológica revelou infiltrado heterofílico multifocal, como se observa na Figura 22.

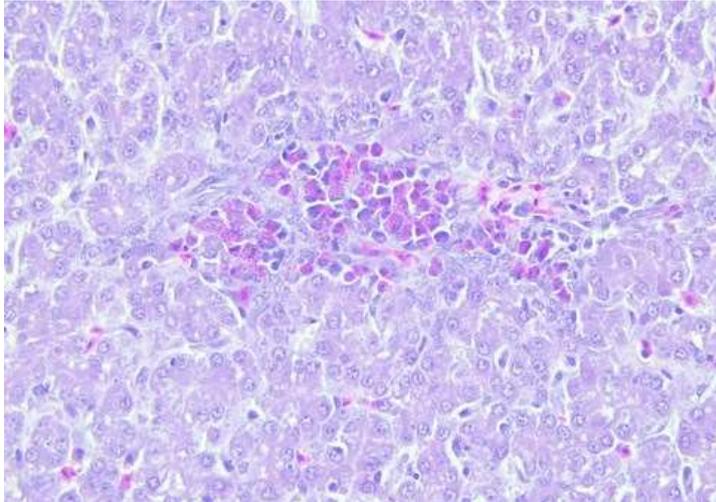


Figura 22. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de Hepatite Aguda (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados friáveis e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 6).

Observou-se que existe uma relação negativa, altamente significativa ($p < 0,001$), entre a rejeição de fígados friáveis e as variáveis hora de abate (coeficiente de correlação $(r) = -0,546$), tempo de jejum pré-abate (coeficiente de correlação $(r) = -0,491$) e tempo de espera de cais (coeficiente de correlação $(r) = -0,500$). Significa que quando aumenta o horário de abate, o tempo de jejum e o tempo de espera no cais diminui a rejeição de fígados friáveis, Não se verificou uma relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre a idade e o peso e rejeição de fígados friáveis.

Tabela 6. Relação da % fígados rejeitados com consistência friável com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote (dias)	Peso médio do lote (Kg)	Tempo de jejum pré abate (minutos)	Tempo de espera no cais (minutos)
% Fígado Friável	r	-0,546	-0,125	-0,052	-0,491	-0,500
	p	<0,001	0,079	0,465	<0,001	<0,001
Média		02:46	35,313	1,96522	319,3284	115,7164
Desvio-padrão		3,331795	4,8436	0,41999	105,9333	100,8013

Aengwanich *et al.* (2004), realizou um estudo sobre os efeitos do stresse em frango industrial, no qual observou nas lesões macroscópicas, fígados mais pálidos (4 de 15 frangos) e na análise histopatológica observou vacuolização dos hepatócitos com dilatação dos sinusoides e presença de heterófilos e linfócitos em algumas partes do fígado.

Nos resultados do presente estudo, os fígados com alteração de consistência apresentavam infiltrados heterofílicos na análise histopatológica, mas não se observou vacuolização dos hepatócitos como no estudo feito por Aengwanich *et al.* (2004).

Segundo Aengwanich *et al.* (2004), a deficiência de oxigénio (fator de stresse) é uma das causas mais comuns de lesão dos tecidos e quando combinada com o aumento da temperatura corporal (fator de stresse) pode levar a morte. O stresse desafia o estado homeostático do organismo. Assim, a resposta ao stresse inclui respostas complexas para manter um estado estável.

Eram necessários mais estudo para perceber se existe uma correlação de níveis maiores de stresse com menor tempo de jejum pré abate e menor tempo no cais de espera dos lotes de fígados rejeitados por alteração de consistência. E se existe uma correlação entre stresse e aparecimento de fígados com infiltrado heterofílico.

Outro estudo e hipótese levantada, seria perceber se a hepatite aguda encontrada nos fígados com alteração de consistência friável, teria sido causada por entrada de agentes patogênicos como resultado de níveis de stresse elevados.

Era necessária uma análise microbiológica destes fígados para obter mais conclusões.

4.2.2. Fígado com suspeita de Esteatose Hepática

Dos fígados rejeitados, 30,81% apresentavam lesões macroscopicamente compatíveis com esteatose hepática. Essas lesões eram caracterizadas por um fígado aumentado de tamanho com bordos arredondados e amarelados como se pode observar na Figura 23 e na Figura 24 está exemplificado a diferença entre um fígado sem alterações macroscópicas e um fígado com lesões compatíveis com esteatose hepática.



Figura 23. Fígado com lesões compatíveis com Esteatose Hepática.



Figura 24. Fígado esquerdo sem alterações microscópicas em comparação com fígado direito com lesões compatíveis com Esteatose Hepática.

Foram enviadas 10 amostras para análise histopatológica, em que o diagnóstico foi compatível com a suspeita de esteatose hepática. A análise histopatológica revelou hepatócitos vacuolizados, com citoplasma contendo em geral, mais do que um vacúolo arredondado, óticamente vazio. Algumas células apresentavam um vacúolo maior, que deforma a célula, encontrando-se o núcleo deslocado para a periferia (células em anel de sinete). A lesão era difusa como se observa na Figura 25.

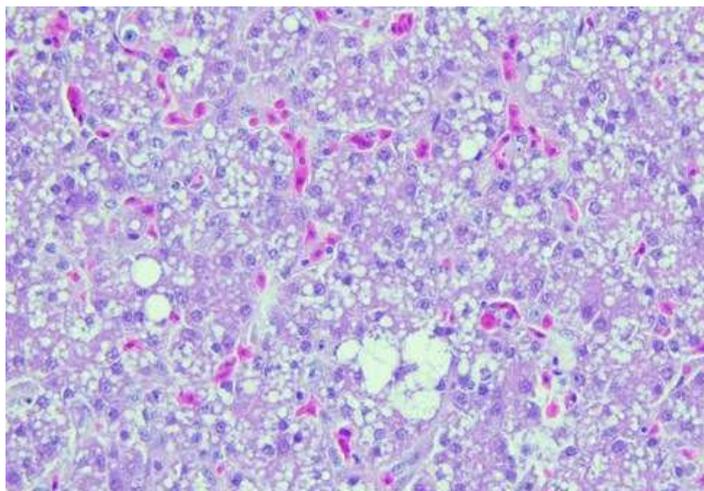


Figura 25. Microfotografia da Análise histopatológica compatível com Lipidose Hepática (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados com suspeita de esteatose hepática e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 7).

Observou-se que existe uma relação negativa, altamente significativa ($p < 0,001$), entre a rejeição de fígados com suspeita de esteatose hepática e as variáveis hora de abate (coeficiente de correlação $(r) = -0,427$), tempo de jejum pré abate (coeficiente de correlação $(r) = -0,381$) e tempo de espera de cais (coeficiente de correlação $(r) = -0,388$). Significa que quando aumenta o horário de abate, o tempo de jejum e o tempo de espera no cais diminui a rejeição de fígados com suspeita de esteatose hepática. Não se verificou uma relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre a idade e o peso e rejeição de fígados com suspeita de esteatose hepática.

Tabela 7. Relação da % fígados rejeitados com lesões compatíveis com Esteatose Hepática com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote (Dias)	Peso médio do lote (kg)	Tempo de jejum pré abate (Minutos)	Tempo de espera no cais (Minutos)
% Esteatose Hepática	r	-0,427	0,001	-0,034	-0,381	-0,388
	p	<0,001	0,991	0,632	<0,001	<0,001
	Média	01:45	35,52	2,01142	293,76	101,7381
	Desvio Padrão	1,08655	4,670813	0,367945	65,8145	70,34135

Segundo Cullen (2007) é importante saber distinguir esteatose fisiológica que acontece devido ao aumento da mobilização por hepatócitos sem alterações de esteatose por alterações patológicas que representam alguma alteração degenerativa nos hepatócitos. O aumento de deposição de lípidos é uma resposta à lesão hepatocelular e pode ocorrer na ausência de outras alterações óbvias na estrutura ou função hepática.

A esteatose hepática não é, obviamente, uma doença específica, mas pode ocorrer como uma seqüela de uma variedade de perturbações do metabolismo normal. (Carlton *et al.*, 1998). A sua causa é desconhecida, entretanto, fatores nutricionais, tóxicos, ambientais e de manejo podem estar envolvidos (Shivaprasad *et al.*, 2003).

Para proteção da estrutura celular dos efeitos das substâncias tóxicas e do ataque dos radicais livres, o fígado intensifica o metabolismo lipídico pela síntese e resíntese de fosfolípidos, importantes constituintes das lipoproteínas do sistema de membranas, e de ácidos gordos (Ribeiro *et al.*, 2009).

Jiang *et al.*, (2000) e Zaytsoff *et al.*, (2019) ambos realizaram estudos em que administraram corticosterona em frangos para simular uma resposta de stresse fisiológico e obtiveram aumento da deposição de lípidos no fígado.

Zaytsoff *et al.*, (2019) demonstrou que o stresse altera a fisiologia do hospedeiro e a morfologia microscópica hepática. Fígados com administração prolongada de corticosterona tinham como alteração histopatológica a vacuolização do hepatócito e como alterações macroscópicas um aumento de tamanho e descoloração.

Segundo (Trampel *et al.*, 2005), frangos sem jejum, com alimentação completa, tinham coloração de fígado mais clara, maiores concentrações de lípidos hepáticos do que frangos com jejum pré abate de 6 ou 12 horas, em que estes tinham fígados com coloração mais escura.

Com estes estudos, verificou-se que pode existir uma relação de lesões compatíveis com esteatose hepática com o stresse e tempo de jejum pré-abate.

4.2.3. Fígado com alteração de cor

Dos fígados rejeitados, 0,21%, apresentavam como lesão macroscópica alteração de cor, eram fígados mais escuros com uma tonalidade esverdeada, como se pode observar na Figura 26 e 27.



Figura 26. Fígado com alteração de cor, mais escuro e com tonalidade esverdeada.



Figura 27. Fígado com alteração de cor, mais escuro e com tonalidade esverdeada.

Foram enviadas 5 amostras para análise histopatológica. O diagnóstico histopatológico foi congestão, o qual, devido à tonalidade esverdeada observada no exame *post mortem*, não era coincidente com o apontado pelos médicos veterinários, os quais suspeitavam mais de retenção biliar interna. A análise histopatológica revelou fígado com vacuolização ocasional de hepatócitos e congestão como se observa na Figura 28.

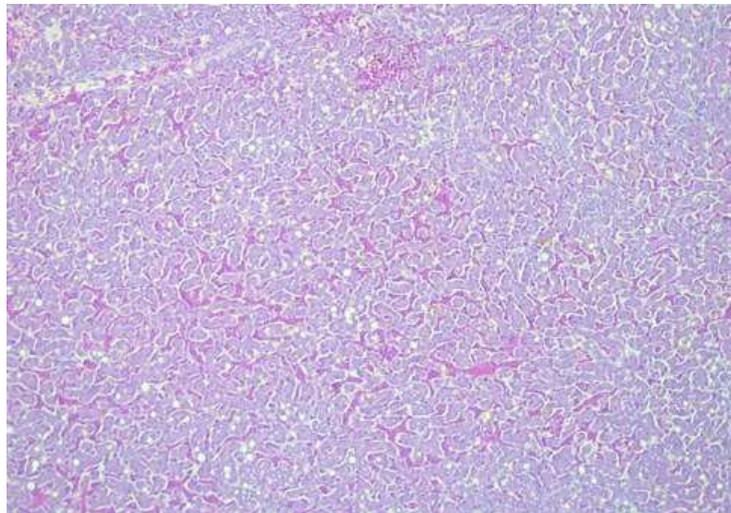


Figura 28. Microfotografia da Análise histopatológica com diagnóstico de congestão (HE, 100x).

Com o objetivo de verificar se existe relação entre a % de rejeição de fígados com suspeita de alteração de cor e as variáveis (Hora de abate, Peso médio, idade, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais), aplicou-se o teste de correlação de Pearson medindo o grau de associação e relação entre as variáveis (Tabela 8).

Observou-se que existe uma relação positiva, altamente significativa ($p < 0,001$), entre a rejeição de fígados com alteração de cor e as variáveis hora de abate (coeficiente de correlação $r = 0,503$), tempo de jejum pré abate (coeficiente de correlação $r = 0,630$) e tempo de espera de cais (coeficiente de correlação $r = 0,603$). Significa que quando aumenta o horário de abate, o tempo de jejum e o tempo de espera no cais, aumenta a rejeição de fígados com alteração de cor. Não se verificou uma relação estatisticamente significativa entre o peso e a idade do lote e a rejeição de fígados com alteração de cor.

Tabela 8. Relação da % fígados rejeitados com alteração de cor com as variáveis hora de abate, idade do lote, peso médio do lote, tempo de jejum pré-abate e tempo de espera no cais.

		Hora do Abate	Idade do lote (Dias)	Peso médio do lote (Kg)	Tempo de jejum pré abate (Minutos)	Tempo de espera no cais (Minutos)
% Alteração de cor	r	0,503	0,270	0,054	0,630	0,603
	p	<0,001	0,061	0,449	<0,001	<0,001
Média		16:22	35,8367	2,02875	845,8936	625,3878
Desvio padrão		1,0055	4,997278	0,486458	140,5882	132,1963

Segundo Lyon *et al.* (1991) e Rasmussen *et al.* (1989) se o período de jejum for longo, acima de 12 horas, ocorre, frequentemente, a contaminação das carcaças e vísceras com bÍlis.

Neste presente estudo, os fígados com alteração de cor, verificou-se que consoante o aumento do horário de abate, tempo de jejum e tempo de espera de cais, aumentava também a rejeição por esta alteração macroscópica. O que pode ir de encontro ao que Lyon *et al.* (1991) e Rasmussen *et al.* (1989) mostraram, que longos períodos de jejum podem levar a contaminação da bÍlis e por isso os fígados dos últimos lotes a serem abatidos, têm maior probabilidade de apresentar fígados mais escuros com coloração esverdeada. Apesar de nas

amostras enviadas para análise histopatológica neste estudo não apresentarem nenhum pigmento biliar, é uma hipótese a ser estudada.

A alteração macroscópica, alteração de cor (escuros com tonalidade esverdeada é uma alteração bastante inespecífica. Era necessário a presença de mais alterações e testes adicionais, para se conseguir estudar melhor e perceber a etiologia dos fígados com alteração de cor.

4.3. Estudo comparativo

De forma a perceber se existe diferenças entre fígados rejeitados ou aprovados relativamente ao peso total do aparelho digestivo, peso do fígado, peso total-peso fígados, peso intestinos, comprimento do fígado, largura do fígado, comprimento vesícula biliar e largura vesícula biliar aplicou-se o teste paramétrico F da ANOVA One Way (Tabela 9).

Verificou-se que existem diferenças estatisticamente significativas no peso total (F=70,236; p=0,00), peso dos fígados (F=59,196; p=0,039), Peso total-Peso fígados (F=67,601; p=0,00), Peso intestinos (F=59,544; p=0,000), comprimento fígado (F=22,311; p=0,000) e largura fígado (F=34,223; p=0,000).

Na Tabela 9, observa-se pela média que os fígados rejeitados apresentam um valor médio superior ao dos fígados aprovados nas variáveis peso total, peso dos fígados, peso total – peso dos fígados, peso dos intestinos, largura do fígado e comprimento do fígado. Não existem diferenças estatisticamente significativas no comprimento e largura da vesícula biliar (p>0,05).

Tabela 9. Estudo comparativo dos fígados aprovados com os fígados rejeitados em relação as variáveis: peso total do aparelho digestivo, peso do fígado, subtração do peso do fígado ao peso total, peso dos intestinos, comprimento do fígado, largura do fígado, comprimento da vesícula biliar e largura da vesícula biliar.

		Média ± Desvio Padrão	F	p
Peso total do aparelho digestivo (g)	Aprovado	205,49 ± 61,78	70,236	0,000
	Rejeitado	272,28 ± 53,63		
Peso fígados (g)	Aprovado	88,99 ± 28,42	59,196	0,000
	Rejeitado	116,39 ± 25,00		
Peso total - Peso fígados (g)	Aprovado	169,31 ± 52,01	67,601	0,000
	Rejeitado	224,08 ± 44,46		
Peso intestinos (g)	Aprovado	36,18 ± 11,50	59,544	0,000
	Rejeitado	48,20 ± 11,41		
Comprimento Fígado (cm)	Aprovado	7,19 ± 0,96	22,311	0,000
	Rejeitado	7,81 ± 1,11		
Largura Fígado (cm)	Aprovado	6,25 ± 0,76	34,223	0,000
	Rejeitado	6,85 ± 0,99		
Comprimento Vesícula Biliar (cm)	Aprovado	2,78 ± 0,56	2,678	0,218
	Rejeitado	2,74 ± 0,66		
Largura vesícula Biliar (cm)	Aprovado	1,06 ± 0,16	1,679	0,187
	Rejeitado	1,04 ± 0,15		

F = Teste da ANOVA One way; p = p-value; M-Média; DP- Desvio Padrão.

Os lotes de frango, em que foram recolhidos os fígados rejeitados para este estudo comparativo, eram os lotes do 1º turno de abate (00h00-04h00). Os lotes de frango com aprovação total de fígados, e em que foram recolhidos os fígados aprovados sem nenhuma alteração macroscópica, eram lotes do último turno de abate (14h00-18h00).

Ou seja, os fígados rejeitados deste estudo comparativo pertenciam aos primeiros frangos a serem abatidos, que por estarem menos tempo no cais de espera, tiveram menos tempo de jejum, em comparação aos frangos do último turno de abate. Na Figura 29 conseguimos observar um exemplo entre a diferença de um fígado recolhido aprovado e o fígado recolhido rejeitado.



Figura 29. Exemplo de um fígado rejeitado (esquerda) recolhido no 1º turno de abate, em comparação a um fígado aprovado (direita) recolhido no 2º turno de abate.

Os resultados deste estudo comparativo vão de encontro a alguns resultados do estudo de Buhr *et al.* (1998) em que foi estudada a influência do jejum no peso das vísceras dos frangos e diâmetro intestinal submetendo o frango industrial a intervalos de jejum (0, 6, 12, 18 ou 24 h). O peso corporal foi determinado antes da retirada da ração e no momento do abate. Após o abate, a cavidade abdominal foi aberta. Os pesos das vísceras torácicas e abdominais, fígado foram determinados e a cor do fígado foi medida. Buhr *et al.* (1998) concluíram que quando jejum pré abate aumentava:

- o peso das vísceras e fígado diminuía;
- o comprimento da vesícula biliar aumentava.

Estes autores também observaram que o peso das vísceras teve uma correlação positiva com o diâmetro intestinal, indicando que, à medida que as vísceras se esvaziavam, o peso do fígado também diminuía. Também constataram que períodos menos longos de jejum resultaram em aumentos significativos na claridade e amarelecimento do fígado.

Os resultados deste estudo mostram que a retirada do alimento influencia o peso das vísceras, o diâmetro intestinal e o comprimento da vesícula biliar, o que pode alterar o potencial de contaminação da carcaça (alimento, fezes ou bile) durante a evisceração (Buhr, R *et al.*, 1998).

Estes resultados vão de acordo com o nosso estudo, pois os fígados rejeitados, do primeiro turno de abate, tinham menos tempo de jejum pré abate que os fígados aprovados no segundo turno de abate. Os fígados aprovados eram mais leves, bem como o aparelho digestivo, e mais escuros. Enquanto que os fígados rejeitados, eram mais pesados, com o aparelho digestivo mais pesado, e eram mais pálidos e amarelos. O que pode ser um indicativo que o tempo de jejum pré abate pode influenciar no aspeto final *post mortem* do fígado.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo identificou como principais alterações macroscópicas associadas à rejeição parcial de fígados as seguintes três alterações: friáveis, alteração macroscópica compatível com esteatose hepática e alteração de cor (cor escura com tonalidade esverdeada). Enquanto que as alterações de fígado que levaram a reprovação total de frango foram: alteração macroscópica compatível com hepatite focal necrótica, alteração macroscópica compatível com hepatite granulomatosa e peri-hepatite fibrinosa.

Os resultados deste estudo também permitem sublinhar a importância de rever alguns códigos de classificação das rejeições hepáticas que, neste estudo, revelaram alterações histopatológicas distintas das macroscópicas e com significados etiológicos e patológicos diferentes:

-Fígados codificados como friáveis a histopatologia descreve hepatite aguda;

-Fígados codificados com alteração de cor, alteração muito inespecífica, a histopatologia identifica uma causa específica de circulação, nomeadamente congestão.

É necessário ter a informação de quais os agentes patogénicos, através de uma análise microbiológica, que levam as alterações macroscópicas como a hepatite necrótica focal, hepatite granulomatosa e peri hepatite, para perceber melhor o estado sanitário dos bandos. E se os fígados com alteração de cor, com alteração de consistência e com suspeita de esteatose hepática também não poderão ter presença de microrganismos patogénicos.

O estudo mais aprofundando da correlação entre as diferentes alterações de coloração, consistência do fígado, e diferentes fatores de stresse, seria igualmente importante, para entendermos o impacto fisiológico e patológico do stresse nas alterações macroscópicas e histológicas no fígado. Ao ter mais conhecimento do mecanismo do stresse no fígado, conseguiríamos aplicar medidas de manejo mais assertivas para diminuir a elevada rejeição parcial dos fígados.

A realização de mais estudos acerca da influencia do tempo de jejum pré abate nas diferentes alterações macroscópicas do fígado, também seria interessante, para saber se realmente o tempo de jejum pré abate, está a ser o mais correto, e como melhorar para não haver discrepância entre os diferentes lotes, pois as condições de manuseamento pré-abate são essenciais para a qualidade da carcaça e respetivas vísceras do frango.

As diferentes alterações macroscópicas hepáticas observadas no decurso do exame *post mortem*, necessitam, no seu geral, de mais estudos, para auxiliarem todos os intervenientes desta fileira na tomada de decisão sobre o seu controlo e redução. Igualmente, a harmonização dos códigos de inspeção reveste-se de extrema importância num sistema integrado de inspeção sanitária bidirecional (“farm to abattoir to farm”) que caracteriza esta fileira de produção, auxiliando a identificação de alterações patológicas específicas e, conseqüentemente, implementar medidas corretivas direcionadas (“tailor made”).

O valor do diagnóstico *post mortem* e do exame histopatológico, continua a ser considerada a ferramenta mais importante no diagnóstico precoce de doenças nos frangos industriais. Em muitos casos, essas lesões *post mortem* e o padrão de alterações no fígado têm grande valor no diagnóstico final.

6. BIBLIOGRAFIA

Adzitey, F. (2011). Effect of pre-slaughter animal handling on carcass and meat quality. *International Food Research Journal*, 18(2), 485–491

Aengwanich, W., & Simaraks, S. (2004). Pathology of heart, lung, liver and kidney in broilers under chronic heat stress. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(3), 417–424.

Alam Sarker, M. M., Rahman, S., Hossain, M. S., Rashid Sarkar, M., & Hamid, S. A. (2019). Pathological Study of Bacterial Infection that Causes Liver Lesions in Chickens. *Asian Journal of Biology*, 8(3), 1–6.

Barcelos, A. S.; Flôres, M. L.; Kommers, G. D.; Nascimento, V. P.; Segabinazi, S. D.; Antoniazzi, T.; Bassan, J. D. L. (2006). Macroscopia, histopatologia e bacteriologia de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados no abate. *Ciência Rural*, v. 36, n. 2, 2006.

Benincasa, N. C., Sakamoto, K. S., Silva, I. J. O., & Lobos, C. M. V. (2020). Animal welfare: impacts of pre-slaughter operations on the current poultry industry. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 8(2), 104–110.

Bordin, E.L. (1978) *Diagnóstico post mortem em avicultura*. São Paulo: Nobel, 165p.

Borges, V. P. (2006). Principais lesões macro e microscópicas em frangos de corte condenados por caquexia em abatedouro: contribuição ao diagnóstico. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita filho” Faculdade de ciências agrárias e veterinária, Câmpus de Jaboti Cabal.

Buhr, R. J., Northcutt, J. K., Lyon, C. E., & Rowland, G. N. (1998). Influence of Time off Feed on Broiler Viscera Weight, Diameter, and Shear. *Poultry Science*, 77(5), 758–764.

Cai, Y. L., Z. G. Song, X. H. Zhang, X. J. Wang, H. C. Jiao, and H. Lin. (2009). Increased de novo lipogenesis in liver contributes to the augmented fat deposition in dexamethasone exposed broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 150:164–169.

Carlton, W.w; McGavin, (1998) M.D. *Patologia veterinária especial de Thompson*. Porto Alegre: Artmed, 672 p.

Cullen, J. M., D.L. Brown, A.J. V. Wettre (2017). Hepatobiliary System and exocrine pancreas. In J.F. Zachary, *Pathologic basis of veterinary disease*. (pp. 412-470). (6th ed.) St. Louis: Mosby Elsevier.

Denbow, D.M. (2000) Gastrointestinal anatomy and physiology. In *Sturkie's Avian Physiology*, 5th ed.; Whittow, G.C., Ed.; Academic Press: New York, NY, USA, 2000; pp. 299–325.

Decreto-Lei n.º 79/2010 de 25 de junho. Diário da República n.º 122 – I Série. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

DGAV. (2020). Análise Exploratória dos Dados de Abate de Lagomorfos e Aves para Consumo Humano em Portugal entre janeiro de 2011 e dezembro de 2019. DGAV.

DGAV. (2011). Guia Interpretativo de avaliação dos parâmetros de bem-estar dos frangos no Matadouro. DGAV

Diretiva 2007/43/CE de 28 de junho de 2007, Jornal Oficial da União Europeia. Conselho da União Europeia. Bruxelas.

Dice, K.M.; Sack, W.O.; Wensing, C.J.G. *Tratado de Anatomia Veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

Estévez, M. (2015). Oxidative damage to poultry: From farm to fork. *Poultry Science*, 94(6), 1368–1378

Fellenberg, M., & Speisky, H. (2006). Antioxidants: Their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poultry Science Journal*, 62(1), 53–70.

Gregory, N. (2005). Recent concerns about stunning and slaughter. *Meat Science*, 70(3), 481–491.

Gross, W.B.; Siegel, H.S. (1993) General principles of stress and welfare, In: GRANDIN, T. *Livestock handling and transport wallingford*: CAB Internacional, Cap.3, p.21-34.

Hoerr, F. J.(1996) Liver. In.: Riddel, C. *Avian histopathology*. Pensylvania: Library of Congress,.p. 143-166.

Huang, J. C., Yang, J., Huang, M., Zhu, Z. S., Sun, X. B., Zhang, B. H., Xu, X. L., Meng, W. G., Chen, K. J., & Xu, B. C. (2018). Effect of pre-slaughter shackling and wing flapping on plasma parameters, postmortem metabolism, AMPK, and meat quality of broilers. *Poultry Science*, 97(5), 1841–1847.

Huq, R. (2002) Longitudinal Study of the Causes of Mortality of Chickens in Parent Stock Flocks of the Department of Livestock Services (DLS) of Bangladesh with a Special

Emphasis on *Escherichia coli* Infection. Tese (Mestrado em Microbiologia Veterinária) – The Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg.

Jiang, K. J., Jiao, H. C., Song, Z. G., Yuan, L., Zhao, J. P., & Lin, H. (2008). Corticosterone administration and dietary glucose supplementation enhance fat accumulation in broiler chickens. *British Poultry Science*, 49(5), 625–631.

Junqueira, L. C. & Carneiro, J. (2004). *Histologia básica*. (10ª ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Kmiec, Z. (2001) Cooperation of liver cells in health and disease. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 161, 1–151.

Lemos, A., Morais, L., Fontes, M. da C., Pires, I., & Vieira-Pinto, M. (2015). *Campylobacter* spp. isolation from infected poultry livers with and without necrotic lesions. *Food Control*, 50, 236–242.

Linden, J. (2015). Colibacillosis in Layers: an Overview. The Poultry Site. Retirado de <http://www.thepoultrysite.com/articles/3378/colibacillosis-in-layers-an-overview/> acedido em Abril 2021.

Lyon, C. E.; Papa, C. M.; Wilson, Junior. R. L. (1991) Effect of feed withdrawal on yields, muscle pH, and texture of broiler breast meat. *Poultry Science*, Ithaca, v.70, n.4, p. 1020-1025.

Lucas, A.M.; Denington, E.M. (1956) Morphology of the chicken liver. *Poult. Sci.*, 35, 793–806.

Miguel, P. (2009). O veterinário inspetor no matadouro. Estudo de fígados rejeitados de bovino. 83. [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1257/1/O Veterinário Inspetor no Matadouro.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1257/1/O_Veterin%C3%A1rio_Inspetor_no_Matadouro.pdf)

Militaru, M., Tudor, L., Ghimpeteanu, M. O., Ciobotaru, E., & Dinescu, G. (2010). Poultry Hepatopathies and Their Correlation with Food Safety. *Journal of Comparative Pathology*, 143(4), 352.

Nakamura, K., Maeda, M., Imada, Y., Imada, T., & Sato, K. (1985). Pathology of spontaneous colibacillosis in a broiler flock. *Veterinary Pathology*, 22(6), 592–597.

Oliveira, F. R., Machado, F. M. E., & Coelho, H. E. (2014). Estudo anatomopatológico de fígados que levam a condenação total de carcaça, na linha de inspeção, durante o abate de frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*) na região do Triângulo Mineiro. *Pubvet*, 8(2)

Panth, Y. (2019). Colibacillosis in poultry: A review. *Journal of Agriculture and Natural Resources*, 2(1), 301–311.

Pestana, M. & Gageiro, J. (2014). *Análise de Dados para Ciências Sociais- A Complementaridade do SPSS (6ª Edição)*. Edições Sílabo: Lisboa.

Petracci, M., & Cavani, C. (2012). Muscle Growth and Poultry Meat Quality Issues. Nutrients portance to animal health and public health. *Procedia in Vaccinology*.

Pires, M. A., Travassos, F. S. & Gärtner, F. (2004). *Atlas de patologia veterinária*. Lisboa: Lidel edições técnicas.

Rasmussen, A.L.; Mast M. G.(1989) Effect of feed withdrawal on composition and quality of broiler meat. *Poultry Science*, Ithaca, v.68, n.8, p. 1109-1113.

Regulamento de Execução (UE) 2019/627 da Comissão de 15 de março de 2019 que estabelece disposições práticas uniformes para a realização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano, em conformidade com o Regulamento (UE) 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho, e que altera o Regulamento (CE) n.º 2074/2005 da Comissão no que se refere aos controlos oficiais peia. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. Bruxelas.

Regulamento (CE) Nº 1069/2009. (2009). *Jornal Oficial da União Europeia*.

Ribeiro, I., Lopes, V., Fátima, M. De, Fuentes, F., & Freitas, E. R. (2009). Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com rações contendo farelo da castanha de caju tratado ou não com antioxidante. *Revista Brasileira de Zootecnia*.

Roth, J. A. (2011). Veterinary vaccines and their importance to animal health and public health. *Procedia in Vaccinology*.

Saviane, G. (2009) *Anatomia das Vias Sanguíneas e Biliares e Histologia do Fígado de Avestruz (Struthio camelus, Linnaeus 1758)*. Dissertação (Mestrado em Ciências), Programa de Pós-Graduação em Anatomia de Animais Domésticos e Silvestres, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Scanes, C. G. (2016). Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poultry Science*, 95(9), 2208–2215.

Shivaprasd, H.L.; Crespo, R. (2003) Developmental, metabolic and other noninfection disorders. In: Saif, Y.M. Diseases of Poultry, 11 ed. Ames, Iowa: Iowa State Press, p.1055-1102.

Stalker, M. J. & Hayes, M. A. (Tony) (2007) Liver and biliary system. In M.G. Maxie (Ed.). Pathology of domestic animals: II volume. (5th ed.). (pp.297-388). Philadelphia: Saunders Elsevier.

Swayne DE, Glisson JR, McDougald LR, Nolan Lisa, Suarez DL, Nair VL (2013). Diseases of Poultry (13th edition)

Trampel, D. W., Sell, J. L., Ahn, D. U., & Sebranek, J. G. (2005). Preharvest feed withdrawal affects liver lipid and liver color in broiler chickens. Poultry Science, 84(1), 137–142.

Xiong, Y. L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In E. A. Decker, C. Faustman, & C. J. Lopez-Bote (Eds.), Antioxidants in muscle foods: Nutritional strategies to improve quality (pp. 85–111). New York, NY: Wiley.

Xing, T., Gao, F., Tume, R. K., Zhou, G., & Xu, X. (2019). Stress Effects on Meat Quality: A Mechanistic Perspective. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18(2).

Zaefarian, F., Abdollahi, M. R., Cowieson, A., & Ravindran, V. (2019). Avian liver: The forgotten organ. Animals, 9(2), 1–23.

Zaytsoff, S. J. M., Brown, C. L. J., Montana, T., Metz, G. A. S., Abbott, D. W., Uwiera, R. R. E., & Inglis, G. D. (2019). Corticosterone-mediated physiological stress modulates hepatic lipid metabolism, metabolite profiles, and systemic responses in chickens. Scientific Reports, 9(1), 1–13.