

# Biociência Animal

---

Alécio Matos Pereira  
Tairon Pannunzio Dias e Silva  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



# Biociência Animal

---

Alécio Matos Pereira  
Tairon Pannunzio Dias e Silva  
Sara Silva Reis  
(Organizadores)



2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
B615	Biociência animal [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Tairon Pannunzio Dias e Silva, Sara Silva Reis. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.  Formato: PDF Requisitos de sistemas: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-785-7 DOI 10.22533/at.ed.857192811  1. Biociência. 2. Zoologia. I. Pereira, Alécio Matos. II. Silva, Tairon Pannunzio Dias e. III. Reis, Sara Silva.  CDD 590
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

O livro de “Biociência Animal” une várias abordagens da utilização do animal para desenvolver o bem-estar humano, ciência animal e segurança alimentar. É um livro versátil que tem 7 capítulos e vários colaboradores especializados na área da ciência animal.

São abordados em seus capítulos assuntos como equoterapia, métodos alternativos para conservação de peças anatômicas, ação da melatonina e do estrógeno sobre o crescimento do tumor e métodos de avaliação da qualidade de carne moída além de outros temas.

A equoterapia, é um método terapêutico que utiliza o cavalo dentro de uma abordagem interdisciplinar nas áreas de saúde, educação e equitação, buscando o desenvolvimento biopsicossocial de pessoas com deficiência e/ou com necessidades especiais alcançando excelentes resultados no desenvolvimento da psicomotricidade e inclusão de jovens com necessidades especiais.

A busca por alternativas ao formol é fundamental para diminuir o seu uso, visto que é uma substância tóxica para o ser humano. Um olhar sobre alternativas para entender o processo mitótico que leva o crescimento dos tumores faz desse capítulo uma fonte para verificar a influência da melatonina e estrógeno no crescimento desse tumor.

O crescimento populacional e a necessidade por alimentos que atendam a crescente demanda, imprime o uso de alternativas alimentares na produção animal. Nesse contexto, o estudo do uso da silagem de grão úmido de milho na alimentação de bovinos de corte torna-se assunto fundamental para o avanço da capacidade produtiva dos animais e rentabilidade do setor, principalmente nos confinamentos.

Um país de mais de 210 milhões de habitantes, com uma demanda crescente por produtos de origem animal, requer um olhar preciso sobre os caminhos da produção dos produtos de origem animal. O capítulo métodos de avaliação da qualidade de carne moída lança um olhar a microbiologia e aos aspectos físico-químicos desse produto tão utilizado na cozinha brasileira

Este livro é destinado a promover fonte de ensino para os estudantes da ciência animal, apresentando uma abordagem eficiente sobre temas relevantes nessa área e enriquecendo em conhecimentos os que minuciosamente estudarem seus capítulos.

Alécio Matos Pereira  
Tairon Pannunzio Dias e Silva  
Sara Silva Reis

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
“UM NOVO OLHAR SOBRE QUATRO PATAS: EQUOTERAPIA”	
Jullyana de Souza Silva	
Amanda Melo Sant'anna Araújo	
Eric Francelino Andrade	
Débora Ribeiro Orlando	
Tânia Pires da Silva	
Claudinete da Assunção Ramos Penha	
Camila Fernandes Oliveira	
Bruna Maria Braga Teixeira	
Igor Vitor Alcântara Calmon	
Karolline Aires da Costa	
Lun Miranda Sales	
Karielly Amaral Andrade	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928111</b>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>10</b>
AÇÃO DA MELATONINA E DO ESTRÓGENO SOBRE O CRESCIMENTO DO TUMOR DE EHRLICH EM CAMUNDONGOS SWISS	
Danielle Dutra Pereira	
Wanessa Noadya Ketry de Oliveira	
Priscila Maria do Santos Oliveira	
Laíse de Souza Elias	
Jeine Emanuele Santos da Silva	
Thaís Heloise da Silva Almeida	
George Chaves Jimenez	
Joaquim Evêncio Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928112</b>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>23</b>
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA CONSERVAÇÃO DE PEÇAS ANATÔMICAS E SUAS APLICAÇÕES CONSCIENTES NO LABORATÓRIO DE ANATOMIA ANIMAL	
Mariana Biscaro Zófoli	
Jorge Gonçalves Pires	
Camila Ramos De Oliveira Nunes	
Ana Bárbara Freitas Rodrigues	
Stefany Martins De Almeida	
Gina Nunes Teixeira	
Leonardo Siqueira Glória	
Raphael Weller Ferreira Menassa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928113</b>	
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>39</b>
CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA SUPLEMENTADAS COM 1,25-DIHIIDROXIVITAMINA-D <sub>3</sub> -GLICOSÍDEO DE ORIGEM VEGETAL	
Christiane Silva Souza	
Maria Goreti de Almeida Oliveira	
Sérgio Luiz de Toledo Barreto	
Flávio Medeiros Vieites	
Arele Arlindo Calderano	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928114</b>	

<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	<b>51</b>
IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO GENÉTICA E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DA RAÇA GIROLANDO NO ESTADO DO AMAZONAS	
Léo Fernando de Faria Salgado	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928115</b>	
<b>CAPÍTULO 6 .....</b>	<b>61</b>
MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CARNE MOÍDA	
Maria Santos Oliveira	
Felicianna Clara Fonsêca Machado	
Gladiane dos Santos Nunes	
Cristiano Pinto de Oliveira	
Natylane Eufransino Freitas	
Helga Germana de Sousa Ribeiro	
Juanna D'arc Fonsêca dos Santos	
Laíze Falcão de Almeida	
Vanusa Castro de Sousa	
Samara de Castro Sousa	
Larissa Maria Feitosa Gonçalves	
Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928116</b>	
<b>CAPÍTULO 7 .....</b>	<b>83</b>
USO DE SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO DE MILHO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE	
Kárito Augusto Pereira	
Renata Vaz Ribeiro	
Otávio Augusto Martins Oliveira	
Thais Marques Santana	
Alliny das Graças Amaral	
Natalia de Avila Soares	
Mariane Rodrigues Ferreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8571928117</b>	
<b>SOBRE OS ORGANIZADORES.....</b>	<b>94</b>
<b>ÍNDICE REMISSÍVO .....</b>	<b>95</b>

## MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CARNE MOÍDA

### **Maria Santos Oliveira**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Felicianna Clara Fonsêca Machado**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Gladiane dos Santos Nunes**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Cristiano Pinto de Oliveira**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Natylane Eufransino Freitas**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Helga Germana de Sousa Ribeiro**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Ciências  
Biológicas Bom Jesus-PI

### **Juanna D'arc Fonsêca dos Santos**

Universidade Federal do Piauí, Campus Profa.  
Cinobelina Elvas Bom Jesus-PI

### **Laíze Falcão de Almeida**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Vanusa Castro de Sousa**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Samara de Castro Sousa**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Larissa Maria Feitosa Gonçalves**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

### **Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior**

Universidade Federal do Piauí, Curso de Medicina  
Veterinária Bom Jesus-PI

**RESUMO:** A análise laboratorial da carne moída permite a obtenção de informações sobre a sua qualidade, condições de higiene de produção e de conservação, e possibilita estimar riscos associados ao seu consumo. De modo geral, as análises para avaliação da carne abrangem provas físico-químicas e microbiológicas. As provas físico-químicas possibilitam conhecer o estado de conservação da carne moída, por meio das modificações provocadas pela degradação de proteínas e lipídeos, pela ação de agentes naturais e de enzimas hidrolíticas endógenas presentes na carne. As microbiológicas permitem detectar microrganismos indicadores da higiene de produção e patógenos capazes de provocar surtos de doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs). A combinação de diferentes técnicas e o uso de parâmetros específicos estabelecidos servem para determinar se o produto atende às

exigências da legislação e se está apto ao consumo. As técnicas de análise de carne moída são uma importante ferramenta para o controle de qualidade da carne e para a prevenção de surtos de DTAs, uma vez que norteiam a adoção de melhorias nas condições de produção, conservação e comercialização.

**PALAVRAS-CHAVE:** contaminação, detecção, deterioração, patógenos.

## METHODS OF ASSESSMENT OF QUALITY OF GROUND BEEF

**ABSTRACT:** The laboratory analysis of the ground meat allows to obtain information about its quality, hygiene conditions of production and conservation, and makes it possible to estimate risks associated with its consumption. In general, the meat evaluation analyzes cover physico-chemical and microbiological evidence. The physical-chemical tests allow to know the state of conservation of the ground meat, through the modifications provoked by the degradation of proteins and lipids, by the action of natural agents and endogenous hydrolytic enzymes present in the meat. The microbiologicals allow the detection of microorganisms that are indicators of hygiene of production and pathogens capable of provoking outbreaks of foodborne diseases (DTAs). The combination of different techniques and the use of specific parameters established serve to determine whether the product meets the requirements of the legislation and is fit for consumption. Ground beef analysis techniques are an important tool for the quality control of meat and for the prevention of outbreaks of DTAs, since they guide the adoption of improvements in the conditions of production, conservation and commercialization

**KEYWORDS:** Contamination, pathogens, detection, deterioration.

## 1 | INTRODUÇÃO

A contaminação microbiana da carne inicia-se durante o abate do animal, por meio do contato com o ambiente, superfícies, utensílios e manipuladores. Na carne moída, o aumento da superfície exposta e a riqueza de nutrientes favorecem a ação microbiana, fazendo da carne um produto altamente perecível. Assim, sob temperaturas inadequadas de conservação, a carne serve como meio de cultura natural para o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos (HANGUI et al., 2015).

A intensa multiplicação microbiana de deteriorantes provoca alterações nas suas características físicas e químicas, próprios do processo de deteriora (JAY, 2005). Por sua vez, patógenos presentes na carne moída, embora sejam imperceptíveis, podem provocar doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs) (NASCIMENTO et al., 2014; SILVA, 2015). As DTAs podem ser infecções, intoxicações ou toxinfecções alimentares (JAY, 2005). Como forma de prevenir a ocorrência dessas doenças,

foram desenvolvidas técnicas para avaliação da inocuidade e qualidade dos alimentos (RODRIGUES et al., 2011).

Neste sentido, as análises microbiológicas servem para investigar a presença ou ausência de microrganismos, além de quantificar grupos microbianos indicadores de higiene (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Por sua vez, as análises físico-químicas permitem conhecer o estado de conservação da carne, através da detecção das modificações ocorridas durante o processo de deterioração (IAL, 2008).

A prática combinada de provas microbiológicas e físico-químicas é capaz de revelar as condições higiênicas de processamento e conservação, além de estimar o risco associado ao seu consumo. Adicionalmente, as análises laboratoriais são indispensáveis para a verificação dos padrões e especificações microbiológicas e físico-químicas, determinados pela legislação (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O aumento da exigência por parte dos consumidores incrementa a busca por alimentos seguros (PINHEIRO et al., 2011). Assim, pode-se considerar que a análise laboratorial da carne é uma ferramenta de grande valor não apenas para os consumidores, mas também para os produtores/elaboradores que desejem atender melhor à essa crescente demanda por produtos mais confiáveis (BERTOLINO, 2010).

Diante do exposto, esta revisão faz uma abordagem sobre os principais métodos laboratoriais utilizados na avaliação da carne moída.

## **2 | ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DA CARNE**

Para a carne ser considerada de boa qualidade deve apresentar características sensoriais, nutricionais e sanitárias dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (VELHO et al., 2015). No Brasil, as provas para avaliar a qualidade físico-química da carne seguem normas estabelecidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999). A análise físico-química da carne moída permite conhecer o estado de conservação, as condições higiênicas de produção e detectar modificações relacionadas ao processo de deterioração (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A seguir serão apresentadas as principais provas físico-químicas para avaliação da qualidade da carne moída.

### **2.1 Características sensoriais**

As características sensoriais ou organolépticas da carne são atributos que impressionam os órgãos dos sentidos e podem provocar aceitação ou rejeição por parte dos consumidores (MESQUITA et al., 2014). As provas sensoriais da carne moída baseiam-se, portanto, na percepção da coloração, odor, aspecto e consistência do produto (IAL, 2008).

Para realização das análises sensoriais, retiram-se porções de várias regiões da peça sem grandes vasos, tecidos adiposos e aponeuroses. Em seguida, efetuam-se cortes em pedaços menores para homogeneização em moedor de carne com discos de 5 mm de diâmetro ou em liquidificador sob baixa rotação por dois minutos. As análises devem ser realizadas imediatamente, mas para algumas provas, é possível o acondicionamento da amostra em frascos hermeticamente fechados e mantidos em congelador (BRASIL, 1999).

### *2.1.1 Coloração da carne*

De acordo com a legislação, a carne bovina deve apresentar coloração uniforme, sem manchas claras ou escuras, variando do vermelho rosado ao vermelho pardo. A coloração da carne é conferida pela mioglobina que contribui com 80 a 90% dos pigmentos totais, e em menor grau, pela hemoglobina (BRASIL, 1999, GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Diversos fatores podem interferir na coloração da carne fresca: idade, sexo, raça, corte, retenção de água, desnaturação da mioglobina pelo calor, ressecamento e grau de deterioração (WARNER et al., 2010).

### *2.1.2 Coloração da carne*

De acordo com a legislação, a carne bovina deve apresentar coloração uniforme, sem manchas claras ou escuras, variando do vermelho rosado ao vermelho pardo. A coloração da carne é conferida pela mioglobina que contribui com 80 a 90% dos pigmentos totais, e em menor grau, pela hemoglobina (BRASIL, 1999, GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Diversos fatores podem interferir na coloração da carne fresca: idade, sexo, raça, corte, retenção de água, desnaturação da mioglobina pelo calor, ressecamento e grau de deterioração (WARNER et al., 2010).

A ação microbiana sobre a mioglobina provoca a separação entre o grupo heme e as proteínas, com formação de coloração esverdeada (ALCANTARA et al., 2012). Não existe uma recomendação geral quanto a mensuração da cor, pois instrumentos de medidas como colorímetros e espectrofotômetros podem ter características distintas quanto o diâmetro de abertura, tipo de iluminador e ângulo de observação, produzindo resultados semelhantes, mas não iguais (CAMILLA et al., 2015).

### *2.1.3 Consistência da carne*

A carne e a gordura devem apresentar consistência firme, compacta e elástica e levemente úmida. Quando inicia a putrefação, a superfície torna-se viscosa ou

limosa com perda da firmeza (BRASIL, 1999; IAL, 2008).

#### *2.1.4 Odor*

A carne moída fresca apresenta odor suave e agradável. À medida em que avança o processo de deterioração, passa a ser liberado odor amoniacal desagradável (BAPTISTA, et al., 2013). De acordo com PARDI et al. (2006), o odor da carne fresca lembra um ligeiro odor ácido lático comercial e a carne de animais idosos possui um odor mais intenso que a dos animais jovens da mesma espécie.

#### *2.1.5 Prova de cocção*

A prova de cocção também possibilita a percepção de alterações na aparência, textura e sabor da carne moída (MESQUITA et al., 2014).

Para a prova, transferem-se 30g da carne moída para um béquer de 250 mL e adiciona-se água suficiente para cobrir a amostra. Em seguida, homogeneiza-se a amostra com auxílio de um bastão de vidro e cobre-se com vidro de relógio. O conjunto deve ser aquecido até o início dos primeiros vapores. Observar o surgimento do odor amoniacal, sulfídrico ou de ranço. Após isso, prossegue-se com a fervura por mais cinco minutos para observação das características da carne e do caldo. O sabor deve ser próprio da carne e a textura firme (BRASIL, 1999).

### **2.2 Prova de Filtração**

O princípio da prova de filtração se baseia na passagem do extrato aquoso da carne por um papel filtro qualitativo com porosidade padronizada, em um determinado tempo. Essa prova avalia o estado de decomposição da carne, através dos produtos solúveis das proteínas, que ficam acondicionados, fazendo a lentidão na filtração (MESQUITA et al., 2014).

A prova é realizada colocando-se 10g da amostra em Erlenmeyer e acrescentando 100 ml de água destilada. Após agitação vigorosa por 15 minutos, a mistura é filtrada em papel de filtro qualitativo, cronometrando-se o tempo. Deve-se considerar a classificação de acordo com o tempo de filtração, considerando-se: carne fresca e sã, com filtração em cinco minutos; carne de média conservação, com filtração entre 6 e 10 minutos; e carne suspeita, provavelmente alterada, a filtração excede os 10 minutos (BRASIL, 1999).

### **2.3 Determinação do pH**

A determinação do pH da carne tem por finalidade determinar as condições ácida ou básica por meio da concentração efetiva dos íons de hidrogênio (SILVA;

FURTADO, 2016).

Para a determinação do pH, pesa-se, 50g da amostra de carne moída, coloca em um Erlenmeyer de 150 mL, e em seguida, adicionam-se 10 mL de água destilada. Após homogeneizar, o conjunto deve ser posto em repouso por 10 minutos e em seguida, faz-se a leitura com o pHmetro devidamente calibrado (IAL, 2008). Conforme os resultados de aferição, a carne moída com pH entre 5,8 e 6,2 são classificadas como boas para consumo; carnes com pH em torno de 6,4 estão aptas ao consumo imediato, pois este é um limite crítico; e carnes com pH acima de 6,4 já estão em decomposição e não devem ser consumidas (IAL, 2008).

## 2.4 Pesquisa de amônia – Prova de Nessler

Para pesquisa de amônia, transferem-se para tubos de ensaio, 2 mL do reagente de Nessler. Em seguida, acrescentam-se 10 gotas do filtrado obtido na prova de filtração e observa-se a coloração formada. Nesta prova, o filtrado é misturado com o reagente de Nessler que tem a capacidade de reagir com o radical amônio, resultante da proteólise, formando um complexo de coloração amarela. Amostras positivas para a presença da amônia desenvolvem uma coloração de amarelo a alaranjada e amostras negativas têm coloração amarelo esverdeada (BRASIL, 1999).

## 2.5 Pesquisa de Gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S)

A pesquisa de gás sulfídrico é realizada pela prova do papel de chumbo e baseia-se na decomposição de aminoácidos sulfurados com a liberação de enxofre. Em meio ácido, o enxofre se transforma em H<sub>2</sub>S, que ao se combinar com o acetato de chumbo, produzem sulfeto de chumbo, o qual enegrece o papel (SILVA JUNIOR, 2013).

A prova é realizada colocando-se em um Erlenmeyer de 125mL, 10g da carne moída em 25 mL de água destilada, e após a homogeneização, coloca-se uma tira de papel de acetato de chumbo preso à tampa do Erlenmeyer, para submeter o conjunto ao banho-maria fervente por 10 minutos. Conforme o grau de enegrecimento do papel, consideram-se três diferentes graus de produção de sulfeto de chumbo. Assim, uma cruz (+) significa pouca produção de sulfeto de chumbo e três cruces (+++), muita produção deste composto (IAL,2008). Naturalmente, uma elevada produção de sulfeto de chumbo indica adiantado processo de decomposição da carne moída (JUSTÉ; THOMMA; LIEVENS, 2008).

### 3 | ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE CARNE MOÍDA

Há uma enorme quantidade de tipos microbianos que podem compor a microbiota da carne moída (JAY, 2005). Embora haja técnicas laboratoriais específicas para pesquisa de inúmeros microrganismos, a investigação de todos os patógenos conhecidos nas amostras seria impraticável e onerosa. Por esse motivo, usualmente são empregadas técnicas de detecção e quantificação de alguns grupos de microrganismos que servem como indicadores de qualidade (CUNHA; SILVA, 2006).

Os microrganismos indicadores de qualidade dos alimentos devem apresentar características como: rápida detecção; facilidade de distinção de outros membros da microbiota; estar sempre presente quando o patógeno associado estiver; e apresentar número, taxa de crescimento, morte e necessidades semelhantes a ele, além de não pertencer a microbiota natural do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Além da pesquisa de indicadores microbianos, faz-se necessário, em alguns casos, investigar a presença de patógenos específicos (MANGEN et al., 2011). A escolha dos microrganismos patogênicos a serem pesquisados deve levar em conta o tipo de alimento e o objetivo da análise (DAMER et al., 2014). Neste sentido, *Salmonella* ssp, *Staphylococcus* ssp e *Escherichia coli* têm sido frequentemente investigados na carne moída, no Brasil e em outros países, devido ao risco potencial de veiculação pelo consumo de carne moída e por serem agentes envolvidos em surtos de DTAs (VIPHAM et al., 2012; LEOTTA et al., 2016).

#### 3.1 Contagem em placas de microrganismos indicadores

O método mais utilizado para quantificação de microrganismos indicadores e patogênicos em alimentos é a contagem em placas (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Esse método pode ser utilizado para contagens de grandes grupos microbianos, tais como: bactérias aeróbias mesófilas, psicotróficas, termófilas, bolores e leveduras, mas também é empregada na quantificação de gêneros e espécies, como *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, com algumas variações relacionadas ao meio utilizado, temperatura e tempo de incubação, de cada microrganismo (MARCHI et al., 2012).

A técnica de contagem em placas baseia-se no princípio de que cada microrganismo viável ou agrupamento microbiano presente no alimento é capaz de formar uma única colônia. Assim, sob condições adequadas de cultivo, as colônias formadas e contabilizadas no momento da leitura, fornecem resultados expressos em unidades formadoras de colônia por mL ou grama de alimento (UFC/mL ou g) (BRASIL, 2003).

De acordo com a instrução normativa nº 62/2003, para a contagem de bactérias, as amostras são homogeneizadas e diluídas em série, com diluentes próprios para o microrganismo pesquisado. Em seguidas, alíquotas dessas diluições são transferidas para placas de Petri esterilizadas. Há duas formas distintas de semeio para contagem microbiana: em profundidade (*pour-plate*), quando o meio sólido é vertido sobre o inócuo; e em superfície (*spread-plate*), onde o inócuo é espalhado sobre o meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. Em ambos os casos, procede-se com a incubação, sob temperatura controlada (BRASIL, 2003).

Embora a técnica de contagem em placas siga o mesmo princípio básico para bactérias e fungos, as características biológicas de cada grupo microbiano resultaram no ajuste das técnicas de maneira a prover as condições ideais de cultivo de forma diferenciada e de modo a inibir o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

### 3.1.1 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas

A quantificação de bactérias aeróbias mesófilas enumera bactérias capazes de se desenvolverem em temperatura de 35 a 37°C, presentes no alimento tanto na forma vegetativa quanto na forma esporulada. Essa técnica não diferencia tipos bacterianos, mas fornece informações sobre as práticas de manipulação, matéria prima utilizada, condições de processamento e vida útil do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A legislação brasileira não estabelece padrão para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas na carne crua. Entretanto, contagens em torno de  $10^7$  UFC/g tornam o produto impróprio para o consumo devido às alterações sensoriais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O meio utilizado na técnica de contagem de bactérias aeróbias mesófilas é o ágar padrão para contagem (PCA). Esse meio é fonte de carbono e nitrogênio para o crescimento de diversos microrganismos, além de conter glicose como fonte de energia.

A técnica inicia com a pesagem asséptica de 25 gramas da amostra, diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  $10^{-2}$ , retira-se, 1mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e coloca em tubo contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%, desta, um mL é retirado para outro tubo de água peptonada 0,1% para formação da diluição  $10^{-3}$ , e assim sucessivamente são elaboradas as diluições subsequentes. Para semeadura, transfere-se um mL de cada diluição decimal, para placas de Petri estéreis, correspondente à cada diluição. Logo após, adicionam-se de 15 a 20 mL do ágar padrão para contagens (PCA), previamente esterilizado, fundido e resfriado a 45°C. Posteriormente, realiza-se a homogeneização do ágar com o inóculo e após solidificação, as placas são

invertidas e incubadas em estufa incubadora a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. A leitura é realizada em placas com 25 a 250 colônias (FENG et al., 2002; BRASIL, 2003).

### 3.1.2 Contagem de Coliformes Totais

Coliformes totais são bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em temperatura de crescimento de  $35$  a  $37^\circ\text{C}$ , por 24 a 48 horas. São representados pelos gêneros da família *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A razão para esse agrupamento são as características em comum entre os grupos (DAMER et al., 2014).

Apesar de os coliformes abrangerem diversos gêneros e espécies não entéricas, há espécies originárias do trato intestinal dos seres humanos e dos animais. Por esse motivo, após a contagem de coliformes totais, normalmente se realiza a pesquisa de coliformes termotolerantes e *E. coli*. A intensa contaminação da carne moída por coliformes totais reflete as condições de manipulação do alimento e do ambiente, enquanto a contaminação por coliformes termotolerantes e *E. coli* são indicativos de um possível contato com material fecal (JORIS et al., 2012).

A técnica de contagem de coliformes em placas inicia, com a pesagem asséptica de 25 gramas da amostra, diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  $10^{-2}$ , retira-se, 1mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e coloca em tubo contendo 9 mL de água peptonada a 0,1%, e desta 1mL é retirado para outro tubo de água peptonada 0,1% para formação da diluição  $10^{-3}$ , e assim sucessivamente são elaboradas as diluições subsequentes. Para inoculação, transfere-se 1 mL de cada diluição para placas de Petri esterilizadas, em seguida adiciona-se cerca de 1,5 mL do ágar cristal violeta vermelho neutro bile, previamente fundido e mantido a  $46-48^\circ\text{C}$  em banho-maria. Logo após, homogeneizam-se, cuidadosamente as placas, e estas devem ser mantidas em repouso para total solidificação. As placas são incubadas em posição invertida a uma temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 18 a 24 horas. Para a leitura, selecionam-se placas contendo entre 15 a 150 colônias com coloração rósea e com 0,5 a 2 mm de diâmetro, rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio (BRASIL, 2003).

A legislação brasileira não estabelece limite para contagem de coliformes totais em carne moída, mas por serem microrganismos presentes no ambiente, contagens elevadas desses microrganismos revelam exposição a condições higiênicas precárias (ROSINA; MONEGO, 2012). Nesses casos, deve-se proceder com a pesquisa de coliformes termotolerantes e *E. coli*, os quais servem como indicadores de contaminação por material fecal (SOUSA, 2006).

### *3.1.3 Contagem de bolores e leveduras*

Os bolores são fungos multicelulares que produzem estruturas filamentosas e as leveduras são fungos unicelulares, esféricos ou ovoides que se reproduzem por brotamento (MAZIERO; BERSOT, 2010). Bolores e leveduras são microrganismos diversificados e estão amplamente distribuídos no ambiente, nos animais e no homem (TRABULSI, 2005). Altas contagens desses microrganismos revelam falhas nas condições higiênicas dos equipamentos, no processamento e contaminação da matéria prima (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A contaminação por fungos em alimentos merece atenção, devido a capacidade de algumas espécies produzirem toxinas com potencial carcinogênico (SILVA JR, 2007). Desse modo, instalações e utensílios devem ser mantidos limpos, por serem considerados fontes importantes de contaminação da carne processada (MAZIERO; BERSOT, 2010).

A contagem de bolores e leveduras em placas baseia-se na capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (BRASIL, 2003).

O meio utilizado para a técnica de contagem de bolores e leveduras é o ágar batata dextrose (ADB), o qual apresenta em sua composição batata que estimula a produção dos esporos em bolores, e dextrose que favorece o crescimento. Após o preparo do meio, faz-se a adição de 10 mL/L, do acidificante ácido tartárico a 10%, para inibição da microbiota bacteriana presentes no alimento. A acidificação do meio é dispensada quando são utilizados meios de cultura contendo antibióticos (BRASIL, 2003).

A técnica inicia-se com a pesagem asséptica de 25 gramas da amostra, diluídos em 225 mL de solução salina peptonada a 0,1%, para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . Para a diluição  $10^{-2}$ , retira-se, 1mL da diluição inicial, coloca em tubo contendo 9 ml de solução salina peptonada a 0,1%, e desta 1mL é retirado para outro tubo de solução salina peptonada a 0,1% para formação da diluição  $10^{-3}$ , e assim para as demais diluições. Para a semeadura, inoculam-se em placas 0,1ml das diluições sobre a superfície do ágar e com auxílio da alça de Drigalski, espalha-se o inóculo por toda a superfície do meio para total absorção. Em seguida, as placas são incubadas sem inverter, em temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por 5 a 7 dias em estufa incubadora. Para a contagem, selecionam-se placas que contém de 15 a 150 colônias e os resultados são expressos em UFC/g ou mL (BRASIL, 2003).

### *3.1.4 Métodos rápidos para contagem de microrganismos*

O sistema Petrifilm™ é um recurso alternativo para contagem de bactérias em alimentos, de modo mais rápido que o método convencional (CIROLINI et al., 2014).

O sistema consiste no uso de placas prontas contendo meio de cultura com diferentes tipos de nutrientes, géis hidrossolúveis a frio, corantes e indicadores apropriados para a recuperação dos microrganismos (JASSON et al., 2010). Essas análises ficam reduzidas a três etapas: inoculação, incubação e leitura. Assim, a utilização das placas Petrifilm™ dispensa a prévia preparação de meios de culturas e vidrarias. Outras vantagens do uso dessas placas é a facilidade de leitura, redução do espaço para incubação e possibilidade de congelamento para posterior leitura (FUNG, 2002). Adicionalmente, essas placas não quebram e não derramam, de modo que há uma redução no risco de acidentes uma vez que não quebram e não derramam (BRASIL, 2005).

A inoculação de amostras em placas Petrifilm™ não requerem habilidades especiais. As placas possuem um filme plástico na parte superior, o qual deve ser levantado para inoculação da alíquota. As diluições de amostras devem seguir os mesmos procedimentos descritos para a contagem convencional. Após adicionar a alíquota, o filme plástico deve ser repostado na posição original e, com auxílio de um difusor plástico, a amostra é distribuída uniformemente na área determinada da placa. Após a solidificação do gel, as placas devem ser incubadas sem inverter, na temperatura e tempo determinado pelo fabricante para cada microrganismo. Após o período de incubação, as colônias visíveis são enumeradas e o resultado é expresso em UFC/g ou mL (BARROS et al., 2007).

No mercado são encontradas placas Petrifilm™ para contagem total de bactérias aeróbias; coliformes totais; coliformes e *E. coli*; bolores e leveduras; *Staphylococcus aureus* e *Listeria sp.* (BRASIL, 2005).

#### *3.1.4.1 Petrifilm™ (AC) para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas*

As placas Petrifilm™ (AC) possuem na sua base o ágar padrão para contagem e o corante indicador 2, 3, 5 cloretos de trifeniltetrazólio, que é reduzido pela ação das bactérias em crescimento, conferindo a coloração vermelha. As colônias vermelhas proporcionam um contraste melhor, facilitam a contagem e a distinção das partículas opacas do alimento.

Ao adicionar o inóculo, os nutrientes são hidratados e o gel é solidificado. As placas são incubadas à temperatura de 32-35°C, por 24 a 48 horas (BRASIL, 2005, CASAROTTI; PAULA; ROSSI, et al., 2008).

#### *3.1.4.2 Petrifilm™ (YM) para contagem de bolores e leveduras*

A utilização do ágar Sabouraud suplementado com glicose nas placas Petrifilm™ YM favorece o desenvolvimento dos fungos, e os antibióticos clortetraciclina e

cloranfenicol, inibem o crescimento bacteriano (MARTINS; FIÚZA; MARTINS, 2013). Além disso, a presença de um indicador de fosfatase, faz com que as colônias corem em azul, uma vez que as células viáveis produzem essa enzima de modo a ativar o indicador presente no meio. Essas placas são incubadas de 20 e 25°C por 48±2 horas (BARROS et al., 2007).

Normalmente, colônias de bolores são grandes, com bordas difusas e podem corar de maneira variada além de azul esverdeado. Por sua vez, colônias de leveduras são tridimensionais, pequenas, possuem bordas definidas e apresentam coloração uniforme variando de rosa a azul esverdeado (OLIVEIRA et al., 2015).

#### 3.1.4.3 *Petrifilm™ para contagem de coliformes e Escherichia coli*

Embora a técnica dos tubos múltiplos seja a metodologia mais utilizada para a pesquisa de coliformes na carne, as placas Petrifilm™ são consideradas sensíveis e eficientes para a detecção de coliformes totais e *E. coli* (SILVA et al., 2006). Essas placas contêm, além do agente geleificante, o ágar vermelho violeta bile e o corante indicador 2, 3, 5 - cloreto de trifeniltetrazólio, para facilitar a enumeração das colônias. Após incubação das placas a 35±1°C, por 24±2 horas, procede-se com a leitura, considerando-se positivas as colônias coradas em vermelho, por redução do indicador, e com bolhas de gás proveniente da fermentação da lactose (BRASIL, 2005).

Além das placas para quantificação de coliformes, há placas específicas para a contagem de *Escherichia coli* (Petrifilm™ EC). Essas placas possuem como meio de cultura base, o ágar vermelho violeta bile, o corante indicador 5 bromo-4-cloro-3-indoxil-β-D-glicuronídeo, que indica a atividade glicuronidásica e agentes geleificantes solúveis em água fria. As placas Petrifilm™ EC têm capacidade para a quantificação bactérias presentes em 1 mL de alíquota, mas há placas mais sensíveis (Petrifilm™ High Sensitive), as quais possibilitam inocular 5 mL de alíquota por placa. A maioria das *Escherichia coli* produz colônias azuis associadas a bolhas de gás, isso ocorre devido a glicuronidase produzida pela *Escherichia coli* que reage com o corante indicador na placa, formando um precipitado azul em torno da colônia. A incubação à temperatura de 35±1°C, por 24±2 horas em estufa incubadora, e para leitura, selecionam-se placas contendo entre 15 e 50 colônias (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

#### 3.1.4.4 *Petrifilm™ para contagem de Staphylococcus sp.*

A presença do ágar Baird-Parker modificado nas placas Petrifilm™ favorecem o desenvolvimento seletivo de *Staphylococcus* sp. Caso seja necessário, a utilização de um disco de gel especial possibilita identificar *S. aureus* em todas as colônias suspeitas. Esse disco possui uma versão cromogênica modificada do meio Baird-

Park, seletivo e diferencial para *Staphylococcus aureus* e permite o crescimento dessas bactérias e a inibição da proliferação de outros espécimes bacterianos (SILVA et al., 2005). Colônias positivas apresentam cor vermelho-violeta. Assim como nas demais placas, os resultados quantitativos são expressos em UFC/g (FERREIRA et al., 2011).

O uso de placas Petrifilm™ é reconhecido pela Association Official Analytical Chemists (AOAC) e, no Brasil, pelo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005). Apesar de serem mais rápidos e serem de rápida leitura, o sistema Petrifilm™ é realizado com material descartável e não possibilita reuso, de modo que em alguns casos, a técnica se torna mais onerosa que o sistema convencional o qual utiliza meios de cultura e placas de vidro laváveis e esterilizáveis.

### 3.2 Determinação do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes

A técnica dos tubos múltiplos é um método que permite estimar a densidade de microrganismos, como coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*, em uma amostra. Diferentemente da contagem em placas, essa técnica fornece apenas uma estimativa baseada na quantidade de tubos positivos nas diferentes diluições decimais, e não uma contagem fixa de células viáveis ou unidade formadora de colônias (SILVA, 2007). Para que seja possível essa estimativa, devem ser preparadas séries de tubos de pelo menos três diluições decimais da amostra. De cada diluição, alíquotas iguais são transferidas para três ou para cinco tubos contendo meio de cultura líquido. Todos os tubos são incubados, em temperatura recomendada para cada microrganismo, e em seguida, os positivos são identificados, baseando-se na ocorrência de turvação e fermentação nos tubos de Durham (BRASIL, 2003).

A leitura de resultados obtidos pela técnica dos tubos múltiplos informa sobre a população presuntiva de microrganismos, mas a partir dos tubos considerados positivos, são realizadas inoculações em caldos e ágar seletivos, para obterem-se informações sobre a população microbiana real (BRASIL, 2003).

#### 3.2.1 Coliformes totais

A técnica dos tubos múltiplos para determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais está dividida nas etapas presuntiva e confirmativa. A etapa presuntiva, inicia-se, com a preparação das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , a partir da pesagem asséptica e transferência de 25 gramas da carne moída para um frasco contendo 225 mL de água peptonada a 0,1%, para preparação da diluição  $10^{-1}$ . As diluições subsequentes são efetuadas por adição de 1 mL da diluição anterior em 9 mL da água peptonada. Conforme a necessidade e o objetivo da análise, podem-

se elaborar mais de três diluições, e após o preparo, 1 mL de cada diluição será transferido, com o auxílio de pipeta estéril, para tubos de ensaio contendo 9 mL do caldo lauril sulfato triptose, com tubos de Durhan invertido. Uma vez inoculados, os tubos devem ser incubados a 35°C por 24-48 horas. Serão considerados positivos os tubos que apresentarem turvação e produção gás (BRASIL, 2003).

Na prova confirmativa, alçadas dos tubos considerados positivos na prova presuntiva são inoculadas em tubos contendo 10 mL de caldo verde brilhante bile lactose 2%, com tubos de Durhan invertidos. Em seguida, esses tubos são incubados a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas e, na leitura, consideram-se positivos os que apresentam turvação e formação de gás. Os resultados das provas presuntiva e confirmativa são expressos como NMP/g de carne, com o auxílio de uma tabela específica (BRASIL, 2003).

### 3.2.2 Coliformes termotolerantes

Os coliformes termotolerantes possuem a capacidade de fermentarem lactose a 45°C com produção de gás (BRASIL, 2003). *Escherichia coli* é a principal representante do grupo e corresponde a cerca de 90% dos espécimes isolados em cultivos positivos de coliformes termotolerantes (MARCHI et al., 2012). A pesquisa de coliformes termotolerantes, está ligada ao interesse de investigar a presença de coliformes de origem gastrointestinal. Entretanto, os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella*, apesar de serem termotolerantes, podem apresentar origem não fecal e compõem a microbiota natural da água, solo e vegetais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O caldo *Escherichia coli* é um meio líquido seletivo de coliformes termotolerantes. A lactose presente no meio favorece o crescimento de bactérias lactose positivas, as quais produzem gás ao fermentarem esse açúcar. Por sua vez, os sais biliares inibem o crescimento de bactérias Gram positivas ou de espécies microbianas não adaptadas a microbiota intestinal (BRASIL, 2003).

Para a determinação do NMP de coliformes termotolerantes na carne moída, alçadas dos inóculos de tubos positivos na prova confirmativa de coliformes totais são inoculadas em tubos contendo 9 mL do caldo *Escherichia coli*. Em seguida, os tubos são incubados em Banho-maria a 44,5°C por 24-48 horas. Assim como nas etapas anteriores, consideram-se positivos os tubos com produção de gás e turvação. De igual modo, a leitura é efetuada com auxílio de tabela específica (FENG et al., 2002). Resultados positivos para coliformes termotolerantes não indicam necessariamente contaminação por material fecal, mas a partir dos tubos positivos, a presença *E. coli* pode ser confirmada em meios seletivos adequados (MENDONÇA; GRANADA, 2012).

### 3.3 Pesquisa de patógenos

#### 3.3.1 Isolamento de *Escherichia coli*

*Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, não-esporulados, fermentam glicose e lactose com produção de ácido e gás. Além disso, apresentam motilidade por meio de flagelos peritríquios e se multiplica em temperatura ideal de 44-45,5°C (SILVA et al., 2010; KNOBL et al., 2012).

A presença de *E. coli* na carne moída indica contaminação por material de origem fecal, em alguma das etapas que antecedem o momento da coleta (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Além disso, o isolamento de *E. coli* demanda atenção, pois a espécie contém patógenos, dentre os quais se destaca *E. coli* O 157H7, sorotipo associado a surtos de doenças transmitidas pelos alimentos (DTAs) (DAMER et al., 2014).

Para isolamento de *E. coli*, a partir de tubos positivos para coliformes termotolerantes, alíquotas são semeadas com alça de platina, em forma de estrias, em placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno. Essas placas são incubadas em temperatura de 35 a 45°C. Após o período de incubação, as colônias com características de *E. coli* (nucleadas e com centro preto e brilho verde metálico), devem ser isolados para serem submetidas às provas bioquímicas (SILVA et al., 2010).

As colônias típicas e com coloração verde metálica são investigadas e confirmadas por meio das provas bioquímicas de indol (SIM), vermelho de metila (VM), Voges Proskauer (VP) e Ágar Citrato de Simmons (método denominado IMViC) (FENG et al., 2011).

O princípio da prova do Indol é a degradação do triptofano com formação do indol, através da adição do reativo de Kovacs. Para análise, transferem-se, com a alça de platina, culturas suspeitas de *E. coli* para tubos contendo o meio de cultura SIM e incubam-se por 24 horas. Decorrendo esse período, adicionam-se em cada tubo 3 gotas do reativo de Kovacs para observação da superfície do meio. Para colônias positivas o reativo cora em vermelho na superfície do meio (FENG et al., 2011).

A prova do Citrato de Simmons, tem como princípio a utilização do citrato de sódio como única fonte de carbono e de nitrogênio. Com essa utilização, ocorre a alcalinização do meio, fazendo a mudança de cor de verde para azul. Para a análises, transferem-se, com a alça de platina, colônias suspeitas para tubos contendo o meio citrato de Simmons. Em seguida, incubam-se os tubos por 24 horas a 35°C. Os tubos com coloração azul são considerados positivos e os corados em verde são

negativos (FENG et al., 2011).

As provas de vermelho de metila e Voges-Proskauer (VM-VP) baseiam-se no metabolismo do ácido pirúvico. O vermelho de metila é utilizado como o indicador de pH abaixo de 4.4 e acima de 6.2 e o Voges-Proskauer determina a capacidade de os microrganismos produzirem produtos finais não ácidos ou neutro, a partir do metabolismo da glicose (FENG et al., 2011).

Para o teste, são inoculadas colônias suspeitas no caldo VM-VP e, estes são incubados a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48 horas. Para a prova vermelho de metila transfere-se 1 mL do caldo VM-VP para um tubo e adicionam-se 5 gotas do vermelho de metila para observação da coloração. Colônias positivas apresentam cor vermelho brilhante e as negativas, colônias laranjas amareladas. Para a prova Voges-Proskauer, retira-se assepticamente 1 mL do caldo VM-VP, colocam-se em tubo e adicionam-se 0,6 mL de alfa-naftol a 5% e de KOH a 40%. Após agitação cuidadosa, o conjunto é posto em repouso, por 5 minutos. Tubos que apresentarem coloração vermelha-rósea na superfície do meio indicam positividade e as colônias negativas devem ser incubadas novamente para repetir a prova após 48 horas (FENG et al., 2011).

### 3.3.2 Isolamento de *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella* spp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, e são bacilos gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose e utilizam citrato como fonte de carbono (FORSYTHE, 2013). Com temperatura ótima de crescimento em torno de  $37^\circ\text{C}$ , podem se multiplicar até  $47^\circ\text{C}$ ; a faixa ideal de pH é de 6,5 a 7,5, mas *Salmonella* spp. pode se desenvolver em ambientes com pH situado entre 4,5 a 9 (SILVA, et al., 2010).

*Salmonella* é considerada uma das principais bactérias envolvidas em surtos de DTAs e tem como reservatório o trato intestinal do homem e os animais. Essas bactérias estão amplamente disseminadas no ambiente e apresentam grande impacto na saúde e na economia mundial (JAY, 2005).

De acordo com dados do Ministério da Saúde, entre os anos de 2007 a 2016 foram registrados 6.632 surtos de DTAs no Brasil, e destes, *Salmonella* sp. foi responsável por 7,5% dos casos (BRASIL, 2016).

A presença de *Salmonella* sp. na carne moída é, portanto, uma importante preocupação para a saúde pública (FERREIRA; SIMM, 2012). Por esse motivo, a RDC nº 12, de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige como padrão para carnes e derivados a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de alimento (BRASIL, 2001).

A técnica para detecção de *Salmonella* spp. em alimentos envolvem cinco etapas: 1-pré-enriquecimento, em caldo não seletivo para restaurar células

injurizadas; 2-enriquecimento seletivo, onde o cultivo é colocado novamente para multiplicação de *Salmonella* spp., 3-semeadura em meios seletivos sólidos que restringem a multiplicação de outras bactérias; 4- testes bioquímicos pelo qual se obtém dados fenotípicos da cultura isolada; 5- sorotipagem para identificação antigênica (BRASIL, 2003).

O uso de placas prontas de Petrifilm™ fornece resultado presuntivo e confirmação bioquímica na pesquisa de *Salmonella* sp. Essas placas contêm os caldos *Salmonella* e rappaport-vassiliadis que enriquecem e suplementam, para recuperação e crescimento de *Salmonella* sp. A prova presuntiva é realizada hidratando-se a placa com 2 mL de água destilada e transferindo-se a amostra em análise, em forma de estrias no gel. Em seguida, as placas são incubadas a 41,5 °C por 24h. Colônias suspeitas são submetidas a confirmação bioquímica por meio de um disco de confirmação, com incubação a 41,5 °C por 4 horas. As colônias confirmadas de *Salmonella* sp. adquirem coloração azul escuro ou negra com centro com precipitado azul (BRASIL, 2005).

### 3.3.3 Contagem e isolamento de *Staphylococcus aureus*

As bactérias que compõem o gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*, medem de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro e são imóveis. São bactérias mesófilas, que crescem em temperatura de 7 a 48°C, e pH 4 a 10, mas é possível sua multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,0 e 9,8. A produção de enterotoxinas ocorre entre 10 e 46°C, com valor ótimo entre 40 e 45°C (FORSYTHE, 2013).

Os estafilococos não são resistentes ao calor e são destruídos facilmente na pasteurização ou no cozimento dos alimentos. As toxinas, ao contrário, são consideradas altamente resistentes, tolerando tratamentos térmicos tão severos como a esterilização dos alimentos (SILVA et al., 2007). A intoxicação alimentar provocada por *Staphylococcus aureus* provém da ingestão das enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante a sua multiplicação no alimento, normalmente quando a contaminação é superior a 10<sup>6</sup> de *Staphylococcus aureus*/g do alimento (SANTANA et al., 2010). Os sintomas mais comuns da intoxicação são vômitos e diarreias, com manifestação entre duas a seis horas após a ingestão da toxina (OBESO et al., 2010).

O homem e os animais são considerados os principais reservatórios de estafilococos, onde estão concentrados sobretudo nas narinas, garganta e pele, mas o gênero está amplamente distribuído na natureza. Apesar dos manipuladores de alimentos serem considerados as principais fontes de contaminação, quando há surtos, os equipamentos e as superfícies também podem ser fontes de contaminação

cruzada (FORSYTHE, 2013).

A contagens de *Staphylococcus* sp. inicia-se com a inoculação das diluições da amostra em Ágar Baird-Park para o crescimento na presença de telurito de potássio com cloreto de lítio e glicina. O ágar Baird-Park quando suplementado com solução de gema de ovo possibilita a verificação das atividades proteolítica e lipolítica, por meio do aparecimento de um halo transparente com precipitados ao redor da colônia. Após a incubação a 36°C por 24 a 48 horas, as placas com característica positiva para o gênero são contadas e o resultado será expresso em UFC/g/mL (BRASIL, 2003).

A partir das colônias sugestivas de *Staphylococcus* sp., realizam-se provas de coloração de Gram, catalase e coagulase. Na coloração de Gram, colônias estafilocócicas vistas em óleo de imersão e aumento de 1000 vezes, apresentam-se em forma de cachos corados em roxo.

Para a prova de coagulase, inoculam-se de três a cinco colônias suspeitas, em 10 mL de caldo BHI, e incubam-se a 35°C por 24 horas. Em seguida, transferem-se 0,3 mL dos tubos do BHI para tubos estéreis contendo 0,3mL do plasma de coelho. Esses tubos devem ser incubados por 6 horas a 36°C em estufa. Os tubos positivos apresentam formação do coágulo pela inclinação suave do tubo em 90 graus da vertical (BRASIL, 2003).

Para a prova de catalase, retira-se com auxílio de uma alça de platina, o centro escuro de uma colônia suspeita, colocando-se em uma lâmina de vidro. Adiciona-se em seguida, uma gota do peróxido de hidrogênio a 3% sobre a colônia, que quando positivas formam borbulhas devido à liberação de oxigênio (BRASIL, 2003).

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das evidências de que a carne moída é um dos alimentos comumente envolvidos em surtos de DTAs, seu controle de qualidade é importante para a segurança alimentar e possibilita a adoção de medidas para a melhoria da qualidade do produto. Neste sentido, as técnicas de análises laboratoriais são ferramentas importantes para garantir a inocuidade da carne moída e prevenir doenças.

#### REFERÊNCIAS

ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; MATOS, C.; SOUZA, O. C. Principais microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v. 6, n. 1, 2012.

BAPTISTA, R. R. A. A. de.; MOURA, F. M. L. de.; FERNANDES, M. F. T. S.; SANTOS, V. V. M.; FERNANDES, E. F. F. T.S. Aspectos qualitativos da carne moída comercializada na região metropolitana do Recife-PE. **Acta Veterinária Brasílica**, v.7, n.1, p.38-47, 2013.

- BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; MONTEIRO, A. A.; BELOTI, V. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 856-862, 2007.
- BRASIL. 2003. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa no 62, de 26 de agosto de 2003. **Dispõe sobre os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de setembro de 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União. 07 de 10 janeiro de 2001. Brasília, DF.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura- SDA. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 09 de setembro de 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 40, de dezembro de 2005**. Métodos Analíticos, Isolamento e Identificação da *Salmonella* na carne bovina, avicultura e produtos derivados de ovos. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 16 de dezembro de 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 83, de 21 de novembro de 2003. **Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne bovina em conserva e carne moída de bovino**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 24 de novembro de 2003.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Disponível em: <<http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>>. Acesso em: 08 abr. 2017.
- CAMILLA, H.; TRINDERUP, ANDERS. D.; KIRSTEN, J.; JENS, M. C.; KNUT, C. Comparison of a multispectral vision system and a colorimeter for the assessment of meat color. **Meat Science**, n.102, p.1-7, 2015.
- CASAROTTI, S. N.; PAULA, A. T.; ROSSI, D. A. Correlação entre métodos cromogênicos e o método convencional na enumeração de coliformes e *Escherichia coli* em carne bovina moída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 3, p. 278-286, 2008.
- CIROLINI, A.; BASEGGIO, A.M.; RAMOS, R.J.; SILVESTRA, H.da.S.; CATTANI, C.S.de. O.; VIEIRA, C.R.W. Avaliação do sistema Petrifilm™ HS na contagem de coliformes em leite pasteurizado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.73, n.3, p.298-301.
- CUNHA, M. A. DA; SILVA, M. R. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.1, n.1, p.09-13, 2006.
- DAMER, J. R. da. S.; DILL, R. E.; GUSMÃO, A. A.; MORESCO, T. R. Contaminação de carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. **Revista Contexto & Saúde**. v.14, n.26, p. 20-27, 2014.
- FENG, P.; WEAGANT, S. D.; GRANT. M. A.; BURKHARDT, W. **Bacteriological Analytical Manual: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. 2002**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>>. Acesso em: 07 abr de 2017.
- FENG, P.; WEGANT, S.D.; JINNEMAN, K. **Diarrheagenic *Escherichia coli*. Bacteriological Analytical Manual**. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070080.htm> Acesso em:06 de abr 2017.

- FERREIRA, A. M.; ANDRADE, D.; RIGOTTI, M. A.; ALMEIDA, M. T. G. *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em superfícies de uma Unidade de Terapia Intensiva. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 24, n. 4, p. 6, 2011.
- FERREIRA, R; SIMM, E. M. Análise microbiológica da carne moída de um açougue da região central do município de Pará de Minas/MG. **SynThesis Revista Digital FAPAM**, v.3, n. 3, p. 37-61, 2012.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607 p.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.
- FUNG, D. Rapid methods and automation in microbiology. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. n.1, v.1, p.3-22, 2002.
- GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Ciência e Qualidade da Carne - Série Didática - Fundamentos**. Viçosa: Editora UFV. 2013. 197p.
- HANGUI, S.A.R.; FERREIRA, A.F.; DOURADO, A.T.S.; MARTINS, J.D.; VARGEM, D.S.; SILVA, J. R. Análise microbiológica da carne bovina moída comercializada na cidade de Anápolis, Goiás. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.12, n.2, p.30-38, 2015.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008. p.1020.
- JASSON, V.; JACXSENS, L.; LUNING, P.; RAJKOVIC, A.; UYTENDAELE, M. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 710-730, 2010.
- JAY, J. M. **Microbiologia dos alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 711.
- JORIS, M.A.; VANROMPAY, D.; VERSTRAETE, K.; REU, K.; ZUTTER, L.; COX, E. Use of antibody responses against locus of enterocyte effacement (LEE) – Encoded antigens to monitor enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections on cattle farms. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 79, n. 12. p. 3677-3683, 2013.
- JUSTÉ, A.; THOMMA, B.P.H.J.; LIEVENS, B. Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and process. **Food Microbiology**. v.25, n.6, p.745-61, 2008.
- KORNACKI J. L.; JOHNSON J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In:\_\_\_\_. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington DC: American Public Health Association, 2001. Cap. 8, p. 69-82.
- LEOTTA, G.A.; BRUSA, V.; GALLI, L.; ADRIANI, C.; LINARES.L.; ETCHEVERRÍA, A.; SANZ, M.; SUCARI, A.; GARCÍA, P. P.; SIGNORINI.M. Comprehensive Evaluation and Implementation of Improvement Actions in Butcher Shops. **Plos One**. v. 11, n. 9, p. 16, 2016.
- MANGEN, M. J.; BOUWKNEGT, M.; FRIESEMA, I. H. M.; HAAGSMA, J. A.; KORTBEEK, L. M.; TARIQ, L.; WILSON, M.; PELT, W.V.; HAVELAAR, A. H. Cost-of-illness and disease burden of food-related pathogens in the Netherlands 2011. **International Journal of Food Microbiology**. v.196, n. 2, p. 84-93, 2015.
- MARCHI, P.G.F.; JUNIOR, O.D.R.; CERESER, N.D.; SOUZA, V.; LAO, N.C.M.R.; FARIA, A.A. Avaliação microbiológica e físico-química da carne bovina moída comercializada em supermercado e açougues de Jaboticabal-SP. **Revista Eletrônica da Univar**, v.1, n.7, 2012.

- MARTINS, S. C. S.; FIÚZA, L. M. C.G.; MARTINS, C. M. Comparação de diferentes meios de cultivo para a avaliação da viabilidade celular de fermentos biológicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 2478, 2013.
- MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n. 1, p. 89-99, 2010.
- MENDONÇA, C. R.; GRANADA, G. Coliformes em açougues de Pelotas-RS. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 5, n. 1, 2012.
- MESQUITA, M. O. de.; VALENTE, T. P.; ZIMMERMANN, A.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Qualidade físico-químico da carne bovina *in natura* aprovada na recepção de restaurante industrial. **Revista vigilância em debate**, v. 2, n. 3, p. 103-108, 2014.
- NASCIMENTO, M.V.D.; UEDES, A. T. L.; SILVA, H. A.; SANTOS, V. E. P.; PAZ, M. C. F. Avaliação microbiológica da carne moída fresca comercializada no mercado central em Campina Grande-PB. **Revista Saúde e Ciência**, v. 3, n. 1, p. 56-68, 2014.
- OBESO, J. M.; GARCIA, P.; MARTÍNEZ, B.; ARROYO-LOPEZ, F.N.; GARRIDO-FERNANDEZ, A.; RODRIGUEZI, A. Use of logistic regression for prediction of the fate of *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk in the presence of two lytic phages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 18, p. 6038-6046, 2010.
- OLIVEIRA, F. B.; MIRANDA, A.S.; VIANA JÚNIOR, N.M.; SANTANA, R. F. Qualidade microbiológica de farinhas de linhaça dourada e marrom. **UNOPAR: Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 17, n. 3, p. 176-80, 2015.
- PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: UFG, v. 1, 2006, p. 592.
- PINHEIRO, F.A.; CARDOSO, W.S.; CHAVES, K.F.; OLIVEIRA, A.S.B.; RIOS, S.A. Perfil de consumidores em relação à qualidade de alimentos e hábitos de compras. **UNOPAR: Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 95-102, 2011.
- R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010. 624p.
- RODRIGUES, M. X.; BITTENCOURT, J. V. M.; MATOS, E. A. S. A.; REIS, D. R. Inovação em métodos analíticos microbiológicos na indústria alimentícia. **Latin American Journal of Business Management**. v. 2, n. 2, p. 54-81, 2011.
- ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação microbiológica da carne bovina moída nas redes de supermercados de Canoinhas-SC. **Revista Interdisciplinar**, v. 2, n. 2, p. 55-64, 2013.
- SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V. ARAGON-ALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M. B. O. C. Estafilococos em alimentos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545-554, 2010.
- SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviço de alimentação**. 6 ed. São Paulo. Varela, 2007. 624 p.
- SILVA JUNIOR, E. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6 ed. São Paulo: Varela; 2013.
- SILVA, B. O.; CARAVIELLO, S. Z.; RODRIGUES, A. C.; RUEGG, P. L. Evaluation of Petrifilm for the Isolation of *Staphylococcus aureus* from Milk Samples. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3000-3008, 2005.

- SILVA, J.S.; FURTADO, S. C. Análise físico-química da carne moída comercializada na zona sul de Manaus-AM. **Revista Científica da Fаметro**, v.1, n.1, p. 11, 2016.
- SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.
- SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.
- SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, SILVA, R. R. L.; GOUVEIA, D. S.; ROCHA, A. P. T.; ARAUJO, A. S. Análise de coliformes e verificação das Boas Práticas de Fabricação de carne moída comercializada na cidade de Campina Grande-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.10, n. 1, p.115-119, 2015.
- SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**, n.9, v.1, p.83-88, 2006.
- TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718 p.
- VELHO, A. L. M. C. S.; ABRANTES, M. R.; MEDEIROS, J. M. S.; AGUIAR, K. C. S.; SOUSA, E. S.; SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A. Avaliação qualitativa da carne bovina in natura comercializada em Mossoró-RN. **Acta Veterinária Brasílica**, v. 9, n. 3, p. 212-217, 2015.
- VIPHAM, J. L.; BRASHEARS, M. M.; LONERAGAN, G. H.; ECHEVERRY.A.; BROOKS, J.C.; CHANEY, W. E.; MILLIR, M. F. Salmonella and Campylobacter baseline in retail ground beef and whole-muscle cuts purchased during 2010 in the United States. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 12, p. 2110-2115, 2012.
- WARNER, R. D.; GREENWOOD, P. L.; PETHICK, D. W.; FERGUSON, D. M. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, Savoy, v. 86, n. 1, p. 171-183, 2010.

## ÍNDICE REMISSIVO

### ELEMENTO QUÍMICO

1,25-dihidroxitamina-D3-glicosídeo 39, 41, 45, 46, 47

#### A

Alimentação animal 83, 84, 93

Alimentação de bovinos 83, 84, 88, 89

Anatomia animal 23, 25

Avaliação da qualidade 48, 61, 63

#### B

Bovinos 60, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Bovinos de corte 83, 89

#### C

Camundongos swiss 10, 11

Características ósseas 39, 47, 48

Caracterização fenotípica 51

Carne moída 61, 62, 63, 65, 66, 67, 69, 73, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 81, 82

Codornas japonesas 39, 41, 44, 45, 46, 47

Colágeno 39, 41

Colecalciferol 39, 40, 41, 44

Composição genética 51

Contaminação 25, 62, 69, 70, 74, 75, 77, 79, 85

#### D

Desenvolvimento biopsicossocial 1, 2

Detecção 38, 62, 63, 67, 72, 76, 79, 82

Deterioração 24, 62, 63, 64, 78

Digestibilidade 83, 84, 87, 88, 89, 90, 92

#### E

Ensilagem 84, 85, 88, 91, 92

Equoterapia 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9

Estrógeno 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20

#### F

Fenótipo 51, 53

Formaldeído 23, 24, 25, 27, 38

## **G**

Glicerina loira 23, 24, 26, 29, 36, 37, 38

Grão úmido de milho 83, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 92

Grupo genético 51, 53, 54, 55, 56, 59

## **I**

Interdisciplinar 1, 2, 81

## **M**

Melatonina 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21

Melhoramento animal 51

## **P**

Patógenos 61, 62, 67, 75

Peças anatômicas 23, 25, 37, 38

Pinelectomia 10, 12, 14, 15, 18

Postura 3, 9, 39, 41, 46, 47, 49

Proteína óssea 39

## **R**

Raça girolando 51

## **S**

Silagem 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Sobrevida 10, 11, 13

## **T**

Terapia 1, 2, 4, 5, 6, 11, 80

Tumor 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21

## **V**

Volatilização 24, 27, 28, 35, 36, 37, 38

