DAILIS DELAZERI

SUPLEMENTAÇÃO COM LEVEDURA *Saccharomyces cerevisae* REDUZ CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CARCAÇA EM NOVILHOS TERMINADOS EM CONFINAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.ª Dra. Heloisa Godoi Bertagnon

GUARAPUA-PR
2020

Catalogação na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

D343s

Delazeri, Dailis
Suplementação com levedura Saccharomyces cerevisae reduz contaminação microbiológica da carcaça em novilhos terminados em confinamento / Dailis Delazeri. – – Guarapuava, 2020.
ix, 36 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, 2020.

Orientadora: Heloisa Godoi Bertagnon
Banca examinadora: Kate A. Buzi, Julia Arantes Galvão

Bibliografia

1. Ciências Veterinárias. 2. Levedura. 3. Microrganismos. 4. Frigorífico. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 636.089

Dailis Delazeri

—

Suplementação com levedura Saccharomyces cerevisiae reduz contaminação microbiológica de carcaça em novilhos terminados em confinamento

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 24 de março de 2020.

Prof.ª Dr.ª Heloisa Godoi Bertagnon
(UNICENTRO)

Prof.ª Dr.ª Kate A. Buzi
(UNICENTRO)

Prof.ª Dr.ª Julia Arantes Galvão
(UFPR)

GUARAPUAVA-PR
2020

Impresso com recursos publicos por mailto na UNICENTRO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e pelas bênçãos alcançadas.

Em especial aos meus pais Aleixo e Marilene, meu exemplo, por ensinarem verdadeiros valores, incentivando para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

As minhas amadas filhas Clarissa e Isabela, presentes de Deus e razão do meu esforço e dedicação.

À minha irmã Daiana por ser a maior incentivadora em todos os momentos da vida, minha sobrinha Millena e cunhado David, por estarem comigo sempre.

Aos meus amigos pelas palavras de incentivo e descontração e, por muitas vezes, entenderem e respeitarem minha ausência.

Aos colegas do mestrado e aos que ajudaram no decorrer da execução do projeto. Em especial a Tereza Cristina Camargo De Rocco e a Patricia Rossi pela amizade, incentivo, e por tudo que fizeram por mim nesse período.

A todos os professores do PPGCV pela contribuição na minha formação profissional. À professora Margarete K. Falbo pelo convite a frequentar o mestrado e apoio de sempre e a professora Karen R. Lemos que foi minha orientadora por determinado período, por acreditar em mim, pela amizade, minha eterna gratidão!

Em especial a professora Kate A. Buzi pela oportunidade, confiança, orientação, paciência e dedicação em todo meu aprendizado e por todo tempo dedicado.

A minha orientadora Heloisa Bertagnon, grande exemplo profissional! Apesar do pouco tempo como orientada, o aprendizado passado será guardado, minha gratidão pela oportunidade, pelos ensinamentos.

Enfim, a todos que torceram por mim e participaram de alguma forma para que este trabalho pudesse ser concluído.

RESUMO

Dailis Delazeri. Suplementação com levedura saccharomyces cerevisae reduz contaminação microbiológica da carcaça em novilhos terminados em confinamento

O uso de aditivos alimentares a base de parede celular de leveduras (PCL) já vem sendo estudo com o intuito de favorecer o crescimento de bactérias benéficas intestinais em detrimento das patogênicas em ruminantes e com isso diminuir quadros de diarreias e aumentar a performance animal. Acredita-se também, que esta alteração na microbiota intestinal, poderia contribuir com uma menor contaminação da carcaça bovina no momento do abate, fato que ainda não foi estudado em bovinos de corte. Deste modo o presente trabalho objetiva verificar se o prebiótico a base de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* reduz coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp das fezes e da carcaça bovina no momento do abate após a evisceração. Para tanto, 18 novilhos, ½ sangue Angus, confinados, foram submetidos a três tratamentos diários durante 105 dias: controle (dieta sem leveduras), levedura 4g (dieta com 4g/animal/dia de 2 x 10^{10}cel/g de *Saccharomyces cerevisiae* comercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brasil), levedura 7g (dieta com
7g/animal/dia, de 2 x 10^{10}cel/g de *Saccharomyces cerevisiae* comercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brasil). Nos dias 29 e 90 após a entrada no confinamento, fez-se as análises a partir de amostras de fezes, couro, água e alimento para contagem de *Escherichia coli* e coliformes totais e isolamento de *Salmonella* spp. baseado na metodologia descrita pelo fabricante Petrifilm 3M®. No dia do abate, realizou-se coleta nas carcaças para identificação e quantificação de *Escherichia coli*, coliformes totais, mesófilos pela mesma metodologia e identificação qualitativa de *Salmonella* spp. pela metodologia ISO 6579/2017. Notou-se redução de *Escherichia coli* e coliformes totais nas amostras de fezes (P=0,0001 e 0,001 respectivamente) e de *Escherichia coli,* coliformes totais e aeróbios mesófilos na carcaça (P=0,06; 0,10 e 0,05 respectivamente) nos grupos tratados com as duas doses do prebiótico, e que houve ausência de *Salmonella* spp. em todas as coletas realizadas. Concluiu-se que a suplementação com 4 ou 7 g/dia de PCL reduziu a excreção fecal e consequentemente, a contaminação da carcaça pela *Escherichia coli*, mesófilos e coliformes totais dos animais confinados, sendo uma medida sanitária benéfica e livre de resíduos para melhorar a qualidade microbiológica da carne.

Palavras chave: levedura, microrganismos, frigorífico.

ABSTRACT

Dailis Delazeri. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* yeast in the reduction of contamination microbiological of bovine carcasses.

The use of yeast cell wall feed additives (PCL) has already been studied with the aim of favouring the growth of beneficial intestinal bacteria to the detriment of pathogens in ruminants, thus decreasing diarrhoea and increasing animal performance. It is also believed that this change in the intestinal microbiota could contribute to less contamination of the bovine carcass at the time of slaughter, a fact that has not yet been studied in beef cattle. Thus, the present work aims at verifying if the prebiotic cell wall base of Saccharomyces cerevisiae reduces total coliforms, Escherichia coli and Salmonella spp from the feces and the bovine carcass at the time of slaughter after evisceration. For this purpose, 18 steers, ½ Angus blood, confined, were submitted to three daily treatments for 105 days: control (yeast-free diet), 4g yeast (4g/animal/day diet of 2 x 1010cel/g of Saccharomyces cerevisiae commercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brazil), 7g yeast (7g/animal/day diet of 2 x 1010cel/g of Saccharomyces cerevisiae commercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brazil). On the 29th and 90th days after entering the confinement, analyzes were made from samples of feces stool, leather, water and food samples were collected for Escherichia coli and total coliforms counting and isolation of Salmonella spp. based on the methodology described by the manufacturer Petrifilm 3M®. On the day of slaughter, the carcasses were collected for identification and quantification of Escherichia coli, total coliforms, mesophils by the same methodology and qualitative identification of Salmonella spp. by ISO 6579/2017 methodology. Reduction of Escherichia coli and total coliforms in stool samples (P=0.0001 and 0.001 respectively) and Escherichia coli, total coliforms and mesophilic aerobes in the carcass (P=0.06; 0.10 and 0.05 respectively) were noted in the groups treated with the two doses of the prebiotic, and that there was absence of Salmonella spp. in all collections performed. It was concluded that supplementation with 4 or 7 g/day of PCL reduced the fecal excretion and consequently the contamination of the carcass by Escherichia coli, mesophils and total coliforms of the confined animals, being a benign and residue-free sanitary measure to improve the microbiological quality of the meat.

Keywords: yeast, microorganisms, fridge.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo de meia carcaça bovina com indicação dos pontos no lado externo (pontos A* e B*) onde foi feita a coleta de amostras superficiais em áreas delimitados de 100 cm² (10cm x 10cm) 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total 22

Tabela 2. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* nas contagens de *E. coli* e coliformes totais na microbiota fecal (log UFC/g de fezes) de bovinos confinados 25

Tabela 3. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* na contagem de *E. coli* e coliformes totais em couro de bovinos confinados (UFC/cm²) 26

Tabela 4. Contagens de *E. coli* e coliformes totais em água e alimento de uma baia do confinamento 26

Tabela 5. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* nas contagens de *E. coli,* coliformes totais e mesófilos na superfície de carcaça (log10/cm²) de bovinos confinados 26

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

®	Marca registrada
°C	Graus Celsius
µL	Microlitro
AAPPC	Avaliação do Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
APT	Água peptonada tamponada
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPLS	Brilliant green phenol-red lactose sucrose agar
Cm	Centímetros
EPM	Erro Padrão de Média
g	Gramas
h	Horas
Há	Hectare
kg	Quilograma
L	Litros
M1	Momento 1
M2	Momento 2
M3	Momento 3
mg	Miligrama
MKTTn	Caldo Muller-Kauffmann
mL	Mililitro
nº	Número
NUPRAN	Núcleo de Produção Animal
PAC	Programa de Autocontrole
PCC	Pontos Críticos de Controle
PCL	Parede celular de levedura
RTM	Ração totalmente misturada
RVS	Caldo Rappaport e Vassiliadis
UA	Unidade Animal
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro-Oeste
XLD	Ágar Desoxicolato-lisina-xilose

SUMÁRIO

RESUMO.....iii
ABSTRACT.....iv
LISTA DE FIGURAS.....v
LISTA DE TABELAS.....vi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....vii
1 INTRODUÇÃO.....9
1.1 OBJETIVOS 10
1.1.1 Objetivo geral.....10
1.1.2 Objetivos específicos.....10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....11
2.1 MICROBIOLOGIA DA CARNE.....11
2.2 FONTES DE CONTAMINAÇÃO DA CARCAÇA.....11
2.2.1 Na produção.....11
2.2.1.1 Bovinos.....11
2.2.1.2 No ambiente.....12
2.2.2 No frigorífico.....13
2.3 MICRORGANISMOS.....14
2.3.1 Aeróbios mesófilos.....14
2.3.1.1 Coliformes totais..... 15
2.3.3 *Escherichia coli*.....15
2.3.4 *Salmonella* spp.....15
2.4 ADITIVOS ALTERNATIVOS À REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARCAÇA.....16
2.4.1 LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae*.....16
AVALIAÇÃO DA LEVEDURA *Saccharomyces cerevisae* NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CARCAÇAS BOVINAS.....19

1 INTRODUÇÃO

A partir de 1980, o confinamento de bovinos para produção de carne passou a ter expressão no país (WEDEKIN *et al*., 1994), pois traz vantagens como: terminação precoce dos animais, maior rendimento de carcaça, carne de melhor qualidade, retorno mais rápido do capital de giro investido na engorda e unidade animal por hectare (UA/ha) elevada, o que é vantajoso para pequenas propriedades (ABIEC, 2018).

Tais vantagens aumentaram o interesse dos pecuaristas por tecnologias que maximizem a eficiência da utilização de alimentos pelos animais confinados. Neste sentido, cita-se a utilização de aditivos alimentares que modulam o ambiente ruminal, sendo os prebióticos, em especial as leveduras (FERELI *et al*., 2010; MORAIS *et al*., 2011), os mais utilizados na alimentação bovina. Dentre eles, a *Saccharomyces cerevisiae* reduz a acidificação do ambiente ruminal por estimular o crescimento de bactérias utilizadoras de ácido lático, produzido em grandes quantidades quando há fermentação de carboidratos solúveis, presentes em dieta com concentrado acima de 50% da alimentação (OWENS *et al*., 1984).

Além disso, os fragmentos de *Saccharomyces cerevisiae* possuem polissacarídeos em sua composição (como α-D-glucana e β-D-glucana), que interagem com células imunes, adsorvem bactérias e por consequência, reduzem a colonização de patógenos no ambiente ruminal. A levedura autolisada possui ainda propriedades antioxidantes e antitumorais, além da capacidade de modular as células imunes e maximizar o sistema imune do animal (BROADWAY *et al*., 2015).

Há inúmeras pesquisas verificando os benefícios do prebiótico a base de levedura *Saccharomyces cerevisiae* em bovinos. Ghazanfer *et al*. (2015) verificaram que este suplemento aumentou a digestibilidade de nutrientes, a imunidade e a saúde de bovinos leiteiros, enquanto Nocek *et al*. (2011) concluíram que as leveduras promoveram aumento de proteínas e gordura láctea, bem como a redução da contagem de células somáticas no leite. No entanto, para gado de corte confinado, estas leveduras não promoveram melhoria na qualidade de carcaça dos animais (GOMES *et al*., 2011).

Em relação a saúde do trato gastrointestinal, Stella *et al*. (2007) verificaram que *Saccharomyces cerevisiae* reduziu significativamente a excreção fecal de *E. coli* em cabras leiteiras. Contudo, Ghazanfer *et al.* (2015) concluíram que o uso da levedura não

provocou redução significativa de coliformes fecais em bezerros.

A obtenção de carne de boa qualidade é um fator de extrema relevância para o cenário econômico. Para isso, é de enorme importância que os animais sejam mantidos sadios, por meio da certificação de sua procedência, manejo sanitário e alimentação, e ainda, que sejam seguidas as boas práticas de higiene no momento do abate (STOCCO *et al.*, 2016).

De acordo com Jardim *et al*. (2006), animais submetidos a regimes intensivos possuem maior susceptibilidade de acumular sujidades e microrganismos na pele, quando comparado àqueles que são terminados de forma extensiva, devido ao pouco espaço e contato demasiado entre os animais. Logo, reduzir a contaminação de carcaças se faz importante para que o produto final possua qualidade sanitária, maior tempo de prateleira e menor possibilidade de ser um transmissor de doenças.

Baseado na premissa de que os prebióticos à base de *S. cerevisiae* contribuem para o aumento da imunidade dos animais (MARTINS *et al.,* 2005) e favorecem o crescimento de colônias benéficas (como lactobacilos) no ambiente ruminal (GHAZANFER *et al.,* 2015), o objetivo deste estudo foi avaliar se o uso oral do prebiótico *Saccharomyces cerevisiae* reduz a excreção fecal de *E. coli*, coliformes totais e *Salmonella* spp. e por consequência, minimiza a contaminação de carcaças bovinas no abate.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Verificar se o uso de prebiótico à base de *Saccharomyces cerevisiae* via oral pode reduzir as bactérias patogênicas da região gastrointestinal e da carcaça após a evisceração de bovinos terminados em confinamento.

1.1.2 Objetivos específicos

Verificar se o prebiótico reduz a população de enterobactérias, *E. coli* e *Salmonella* sp: - no trato gastrointestinal de bovinos;

- no couro de bovinos;
- na carcaça de bovinos, no momento do abate após a evisceração.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MICROBIOLOGIA DA CARNE

A carne é um ótimo meio de cultura microbiana, pois tem alta qualidade nutricional e grande atividade de água na sua composição, o que torna a carne bovina susceptível a diversos microrganismos que ocasionam a destruição de suas propriedades, acarretando prejuízos econômicos e sanitários tanto na saúde animal quanto na humana (OLIVEIRA *et al.*, 2008; STOCCO *et al.,* 2016).

Na saúde pública, esse impacto é indiscutível e infelizmente não é possível alcançar a erradicação completa das afecções alimentares. Para isso, órgãos de controle de alimentos, do governo e indústrias estão sempre buscando maneiras de minimizar os riscos e a ocorrência de tais enfermidades (BORGES; FREITAS, 2002). Por isso, utiliza-se os sistemas de controle de qualidade na produção de carne bovina, tais como as Boas Práticas de Fabricação (BPF), a Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e os Programa de Autocontrole (PAC), a fim de verificar a inocuidade dos produtos que serão destinados ao consumidor.

Atualmente, o serviço de fiscalização fiscaliza tal produção a partir de exigências dos países importadores e quando se trata de um produto destinado ao consumo interno, as regras seguidas são as estabelecidas pela RDC n°12 que aborda os padrões microbiológicos sanitários para alimentos (BRASIL, 2001) e pela IN 60/2018 que diz respeito ao controle microbiológico de carcaças e carnes em frigoríficos brasileiros (BRASIL, 2018).

Em relação aos padrões microbiológicos nota-se que a microbiota da carne é afetada por diversas condições na propriedade e do processamento do abate no frigorífico, o que resulta em variadas taxas de contaminação da carcaça por diferentes agentes. Normalmente os agentes indicadores de contaminação mais estudados são os aeróbios mesófilos e os coliformes, que indicam respectivamente, a população geral de microrganismos e uma contaminação de origem entérica da carcaça (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Brandão *et al.* (2012) ressaltam que os níveis de contaminação em carcaças bovinas por aeróbios mesófilos são aceitáveis quando se encontram abaixo de 10^5 UFC/

cm². Entretanto, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece como níveis aceitáveis de contaminação na carcaça bovina por coliformes totais quando estes se apresentam abaixo de 1,5 log10 UFC/g (BRASIL, 2018).

A *Salmonella* spp também compõe o grupo de microrganismos indicadores da qualidade microbiológica de carne bovina e isso devido sua origem entérica de animais e humanos. A importância desta bactéria para a saúde pública é indiscutível e por isso, o controle deve ser minucioso, especialmente quando se trata de produtos destinados à exportação (LOPES, 2011).

Para tanto, é necessário reconhecer as fontes contaminantes das carcaças para que as medidas preventivas sejam tomadas.

2.2 FONTES DE CONTAMINAÇÃO DA CARCAÇA

2.2.1 Na produção

Durante a criação dos bovinos, estes animais podem aumentar a contaminação de sua microbiota natural existente, localizada principalmente nos sistemas digestório, respiratório e na pele, o que representa riscos para a contaminação da carcaça visto que esta microbiota comumente alcança a musculatura no processamento pós-abate. Desta maneira, inúmeros estudos têm sido realizados verificando quais sistemas de criação favoreceriam uma menor contaminação da pele (JARDIM *et al.,* 2006; GATTASS *et al.,* 2008; SILVA, 2012).

Nestas regiões a maioria das bactérias são saprófitas, contudo conforme o sistema de alimentação e criação dos bovinos, é comum que existam espécies patogênicas nesta microbiota, como a *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens, E. coli* e *Campylobacter fetus* (JARDIM, 2005).

A pele é a maior fonte contaminante, uma vez que está em contato direto com o solo e as fezes, carreando até 9 $\log_{10}$ UFC/cm² de patógenos (JERICHO *et al.*, 1996). A presença de material fecal sobre a pele remete a uma intensa contaminação de carcaças, especialmente pela *E. coli* (REID *et al.*, 2002).

Quando se fala de trato gastrintestinal, as bactérias mais importantes são

Salmonella sp., *Yersinia enterocolitica, C. perfringens* e *E. coli.* Esta última é a mais comum da microbiota ruminal dos bovinos, e apresenta cepas cada vez mais resistentes a antibióticos comerciais. Altas concentrações de ácidos graxos voláteis são fatores protetores quando se trata da salmonelose, logo, períodos de jejum prolongado podem tornar o ambiente ruminal susceptível a infecções por *Salmonella* spp. (JARDIM, 2005; JARDIM *et al.*, 2006).

O trato respiratório por sua vez, também possui uma microbiota comensal. Segundo Benesi *et al.* (2013) e Gaeta *et al.* (2018), os microrganismos mais comuns encontrados na região traqueobrônquica de bezerros são Staphylococcus sp., Bacillus sp., Streptococcus sp., Pseudomonas aeruginosa e enterobactérias, sendo estas últimas mais patogênicas.

Além disso, a saúde dos animais também está intimamente ligada com o meio em que os animais são criados. Geralmente, quando o produtor faz uso de boas práticas sanitárias, o rebanho não é tão susceptível aos microrganismos patogênicos (PEREIRA; DUTRA, 2012).

Em produção extensivas, o maior espaçamento entre os animais promove melhores condições sanitárias e de bem-estar, entretanto quando se trata de uma produção intensiva, o número de animais acometidos por doenças infecciosas cresce de forma marcante, devido a maior concentração de animais em um espaço demasiado pequeno e as más condições de higiene da baia, como cama, bebedouros e comedouros. Tais condições aumentam a proliferação de microrganismos em animais que se encontrarem em um manejo nutricional e sanitário deficiente, apresentando maior índices de doença como pneumonia e afecções digestórias, favorecendo a contaminação de todo o rebanho (EUCLIDES FILHO *et al.*, 2002).

Contudo, a utilização indiscriminada de antibióticos tem suas consequências, uma vez que acarreta quadros de resistência bacteriana na espécie humana. Mota *et al.* (2005) citam que essa condição é um problema sério em termos de saúde pública, uma vez que os produtos advindos de animais submetidos a um tratamento antimicrobiano descomedido, têm se tornado fonte de resistência aos antibióticos para os seres humanos.

Um obstáculo para a reparação dessa falha sanitária é o elevado custo que estaria envolvido na reforma e adaptação das instalações de um confinamento. Para tanto,

quando se faz necessária uma escolha, o produtor deve investir em medidas sanitárias e de higiene que sejam ligadas com a saúde dos animais e do consumidor (EUCLIDES FILHO *et al.*, 2012).

2.2.2 No frigorífico

A maior parte dos microrganismos das carcaças é eliminada durante o abate, a partir das diferentes etapas dentro de um frigorífico. Contudo, algumas bactérias sobrevivem e não há um processamento térmico do produto final que garanta a completa esterilização da carne (JARDIM *et al.*, 2006; BRANDÃO *et al.*, 2012).

Além disso, os procedimentos realizados antes e durante o abate podem disseminar ainda mais os patógenos, acarretando uma contaminação cruzada. Medidas higiênico-sanitárias são tomadas para reduzir essa carga bacteriana, por exemplo, o cuidado com vestuário, equipamentos e mãos dos funcionários (FONTOURA *et al.*,
2010).

No frigorífico, o transporte é um dos procedimentos que pode contribuir com a contaminação das carcaças, uma vez que aumentam a exposição dos animais a patógenos devido ao estresse. Outro momento crucial quando se trata da contaminação de carcaças, é a inspeção *ante-mortem*, uma vez que os animais são remanejados em baias (o que aumenta o estresse) e dificilmente um patógeno zoonótico é detectado (FONTOURA *et al.*, 2010; BRANDÃO *et al.*, 2012).

O banho de aspersão a que os animais são submetidos é visto como benéfico para a redução da carga microbiana das carcaças (FONTOURA *et al.,* 2010). De acordo com o decreto nº 9.013/2017 (BRASIL, 2017), todos os animais devem ser submetidos ao banho de aspersão para promover a limpeza e remoção de sujidades, contudo, um estudo realizado por Roça (1993) apontou que tal procedimento não é tão significante quando se faz a contagem bacteriana nas superfícies de carcaças.

Nas etapas *post-mortem,* a fase mais crítica de contaminação é a esfola, uma vez que a pele pode entrar em contato com a carcaça, carregando diversos microorganismos para a mesma. Os instrumentos utilizados também são de suma importância e para isso, são tomadas medidas higiênicas como a imersão de facas em água a 82°C após o seu

uso em cada carcaça (BRANDÃO *et al.*, 2012)

A evisceração é um processo fundamental durante o abate e isto devido à manipulação do trato gastrintestinal, logo, quando há oclusão adequada do reto e do esôfago e as vísceras são retiradas intactas, há um risco menor de contaminação. O sucesso deste procedimento, depende da habilidade e comprometimento do operador (ROÇA, 1993; BRANDÃO *et al.*, 2012).

A lavagem de carcaças é uma fase obrigatória na linha de abate, devido as práticas na linha de abate não eliminarem completamente as chances de contaminação. Sabe-se que tal estratégia apenas com o jato de água não é completamente eficaz na retirada de pêlo e máculas provenientes do contato com fezes, por isso nestas condições deve-se remover com a faca a área contaminada, é possível que novas abordagens são efetivas, como utilização de água quente ou ácidos orgânicos e que, infelizmente, não tiveram resultados satisfatórios (GUEDES, 2006).

Para o encaminhamento das carcaças até as câmaras frias, muitas vezes utilizam-se as mãos sem uma devida higienização ou cuidado e isso reflete em uma contaminação adicional da carne. Superfícies contaminadas agem como focos de disseminação, seja por contato direto ou por disseminação a partir de utensílios, para tanto, é interessante que o nível de contaminação inicial seja o menor possível, amplificando as condições ótimas de estocagem (GUEDES, 2006; CARVALHO,
2010).

2.3 MICRORGANISMOS

2.3.1 Aeróbios mesófilos

Trata-se de um grupo de bactérias capacitadas a se multiplicar em temperaturas de 10 a 45°C e frequentemente presente em produtos de origem animal, quando estes são mantidos em temperatura ambiente. Por este motivo, tornaram-se um dos principais microrganismos avaliados na busca por índices de contaminação dentro da produção de alimentos (SILVA, 2002).

Segundo Brandão *et al.* (2012), valores abaixo de 10^5 UFC/cm² de contaminação

de aeróbios mesófilos correspondem a medidas higiênicas adequadas durante o abate, enquanto os níveis acima de 10^6 UFC/cm² apontam para o início da perda de qualidade da carne, com redução do tempo de prateleira e produção de odores característicos. Os mesmos autores ressaltam que produtos cárneos com valores de contaminação acima de 10^7 UFC/cm² já apresentam a formação de uma substância viscosa evidente.

Os microrganismos estão presentes nos alimentos e podem facilitar o levantamento de informações referentes à contaminação fecal e condições sanitárias inadequadas. A quantificação de microrganismo mesófilos, por sua vez, é o melhor indicador de contaminação que se pode ter, uma vez que esses agentes são os principais microrganismos encontrados em carcaças contaminadas (HAOACK *et al.,* 2018).

2.3.2 Coliformes totais

Os coliformes totais, também conhecidos por grupo *coli-aerogenes*, são bacilos Gram-negativos não formadores de esporos, aeróbios e capazes de fermentar lactose quando são mantidos em incubação por 48 horas entre 35°C e 37°. Devido sua característica de ser facilmente destruído pelo calor, a busca deste grupo é útil para se certificar da contaminação pós-processamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FORSYTHE, 2013).

Este grupo está presente na microbiota fecal, contudo apenas a *Escherichia coli* possui o trato intestinal dos seres vivos como habitat primário. Os demais gêneros, tais como *Enterobacter, Citrobacter* e *Klebsiella* habitam e são capazes de sobrevivem em ambientes como o solo e vegetação (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Desta forma, não é possível afirmar a ocorrência de contaminação fecal em alimentos quando se avalia apenas a contagem de coliformes totais. Para que a presença de enteropatógenos seja confirmada, faz-se necessário avaliar espécies em particular, como a *E. coli* (FORSYTHE, 2013).

2.3.2.1 *Escherichia coli*

São bactérias que pertencem à família *Enterobacteriaceae,* possuem formato de

bacilo e são Gram-negativas não-esporuladas. São capazes de fermentar açúcares quando incubadas entre 44°C e 45°C, devido sua característica de ser anaeróbia facultativa (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FORSYTHE, 2013).

Devido seu grande número de cepas patogênicas, estas estão divididas de acordo com sintomatologia clínica que causam e os seus mecanismos patogênicos. Os seis grupos conhecidos são: *E. coli* entero-hemorrágica (de maior importância para a medicina veterinária), *E. coli* enterotoxigênica, *E. coli* enteropatogênica, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enteroagregativa e *E. coli* difusamente adesiva (FORSYTHE,
2013).

A *E. coli* entero-hemorrágica tem como principal origem, os bovinos. Contudo, também se pode encontrar em outras espécies animais, alimentos crus e derivados de leite ou carne que tenham sido malcozidos (FORSYTHE, 2013).

Desta forma, é possível assumir que a realização de pesquisas sobre a *E. coli* em alimentos, apresenta com segurança as informações a cerca da higiene na linha de produção, uma vez que deflagra a contaminação da carcaça por enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

2.3.3 *Salmonella* spp

A *Salmonella* é um bastonete Gram negativo pertencente à família *Enterobacteriaceae.* São bactérias móveis não formadoras de esporos e anaeróbios facultativos, capazes de produzir ácido e gás a partir da fermentação de carboidratos FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Trata-se de um dos principais gêneros responsáveis por intoxicações alimentares em seres humanos. Representa uma grande parcela de morbidade, mortalidade e perdas econômicas em diferentes países ao redor do mundo (FORSYTHE, 2013).

Grande parte da fonte contaminante de *Salmonella* são produtos de origem animal, como carne e derivados do leite. Contudo, é comum encontrar resultados positivos quando se avalia a sua presença em vegetais ou frutas (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FORSYTHE, 2013).

Este grupo é dividido em apenas duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori.* Porém,

para auxilar as investigações epidemiológicas, subdividiu-se estas em sorotipos dos quais, atualmente, existem mais de 2.400 sorovares (FORSYTHE, 2013).

2.4 ADITIVOS ALTERNATIVOS À REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARCAÇA

A busca pela intensificação da produção de carne bovina faz com que o produtor almeje o maior desempenho animal e para isso, usufrui de uma dieta rica em grãos. O substrato mais energético favorece a fermentação ruminal que, por um lado possibilita a melhor utilização dos nutrientes pelos microrganismos ruminais, mas também acarreta a perda da qualidade nutricional dos alimentos para o ambiente por meio da geração de calor, metano e amônia (BONATO *et al.,* 2015).

Levando isso em conta, França e Rigo (2011) apontaram que aditivos alimentares têm sido estudados para reduzir os efeitos maléficos da dieta altamente energética e maximizar sua digestibilidade. Dentre os aditivos, os mais estudados são os antibióticos promotores de crescimento, como a monensina sódica, mas que deixaram de ser usados uma vez que causam resíduos na carcaça e apresentam histórico de resistência a microrganismos patogênicos em seres humanos (BONATO *et al.,* 2015).

As leveduras vêm ganhando destaque pois são consideradas seguras em relação a resistência microbiana, além de serem aceitas como aditivos nos mercados consumidores e importadores. Dentre as leveduras mais utilizadas e que tem ganhado espaço nas pesquisas atualmente, cita-se a *Saccharomyces cerevisiae*.

A *Saccharomyces cerevisiae* é uma espécie de fungo unicelular que se reproduz por brotamento e mantém-se como levedura em diferentes condições ambientais, exceto quando há baixos níveis de nitrogênio. É caracterizada como anaeróbia facultativa devido à sua capacidade de utilizar tanto oxigênio, quanto compostos orgânicos para obter energia. Logo, é um microrganismo que apresenta resistência aos diversos desafios ambientais (BONATO *et al.,* 2015).

Essa espécie fúngica é bastante utilizada na indústria alimentícia, especialmente na fermentação de bebidas e pães, além de possuir propriedades que facilitam sua aplicação em procedimentos moleculares e sequenciamento genético (DEL RIO, 2004). Recentemente, a *S. cerevisiae* e seus componentes celulares têm sido aplicados na dieta

de diferentes espécies animais por apresentarem características de melhoria de desempenho, saúde e bem-estar animal (BROADWAY *et al.*, 2015), além de possuírem ação imunomoduladora, regulação da glicemia e maximização da digestão (SILVA,
2006).

De acordo com Broadway *et al.* (2015), existem dois tipos da levedura *S. cerevisiae* disponíveis para a utilização como suplementos: leveduras vivas (liofolizadas ou frescas) e os fragmentos destas leveduras (autolisadas ou hidrolisadas). Estes possuem em sua composição polissacarídeos como α-D-glucana, β-D-glucana e manano-oligossacarídeos que possuem propriedades antioxidantes e antitumorais, além de possuírem a capacidade de interagir com células imunes e adsorver bactérias, prevenindo a contaminação do trato gastrointestinal por patógenos (STADLER JUNIOR *et al.,* 2019).

Newbold *et al.* (1996) fomentaram que a presença de culturas de *S. cerevisiae* viva estimulam o crescimento e a atividade das bactérias celulolíticas ruminais, acarretando maior digestibilidade e degradação da matéria seca no rúmen. Os mesmos autores ainda afirmaram que devido à maior atividade bacteriana ruminal, a síntese e fluxo de proteína microbiana para o duodeno aumentam e por consequência, o consumo de matéria seca, o desempenho animal e o metabolismo energético também são impulsionados.

O mecanismo de ação das leveduras vivas ainda é mistificado, alguns autores relatam que a *S. cerevisiae* é capaz de promover a liberação de citocinas de macrófagos (MAJTÁN *et al.*, 2005) e modular as células imunes (MEDZHITOV; JANEWAY,
2000). Gattass *et al.* (2008) citaram que as culturas de leveduras possuem afinidade com o oxigênio, portanto, favorecem o ambiente ruminal para os microrganismos anaeróbicos se desenvolverem.

Segundo Bonato *et al.* (2015), a suplementação de bovinos de leite com *Saccharomyces cerevisiae* viva tende a elevar o consumo de alimentos e consequentemente a produção leiteira. Tal benefício pode ser explicado pelo aumento de consumo a partir da estimulação do crescimento da espécie *Selenomas ruminantium*, bactéria que utiliza lactato.

Pesquisadores avaliaram a utilização da levedura viva como probiótico para gado leiteiro e alcançaram resultados benéficos, onde a dose de 5g/animal/dia aumentou

a digestibilidade de nutrientes, imunidade e saúde no crescimento (GHAZANFER *et al.,* 2015), enquanto 28g/animal/dia de levedura promoveu o aumento de proteínas e gordura láctea, além de reduzir a contagem de células somáticas no leite (NOCEK *et al.*, 2011).

Segundo Stadler Junior *et al.* (2019), a suplementação de bovinos com *S. cerevisiae* viva favorece a estabilização da fermentação ruminal e consequentemente, melhora o desempenho produtivo dos animais de forma sustentável. Contudo, o mesmo autor afirma que tais benefícios são reflexo de um fornecimento contínuo da levedura juntamente a dieta dos animais.

Por outro lado, pesquisas em bovinos de corte concluíram que o incremento da levedura em dietas balanceadas não influenciam na fermentação ruminal (GATTAS *et al.,* 2008), assim como não afetam a qualidade de carcaça, inferindo que a utilização deste prebiótico apenas eleva o preço de produção dos animais (GOMES *et al.,* 2011).

Levando em conta a escassez de estudos sobre a utilização de leveduras autolisadas como prebiótico especialmente na redução de microrganismos na excreção fecal e a interferência na contaminação da carcaça em bovinos de corte, tal estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do fornecimento do prebiótico contendo *S. cerevisiae* autolisada na redução de contaminação fecal e de carcaça em novilhos confinados.

Artigo a ser submetido a Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos

SUPLEMENTAÇÃO COM LEVEDURA *Saccharomyces cerevisae* REDUZ CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CARCAÇA EM NOVILHOS TERMINADOS EM CONFINAMENTO.

Dailis Delazeri[1], Kate Aparecida Buzi[2], Mikael Neumann[2], Patricia Rossi[1], Tiefanny Zart[3], Andressa C. Z. Seidel[1], Gabriela Garbosa, Loisa Padilha Hintz[3], Heloisa Godoi Bertagnon[2].

[1]Aluna de mestrado do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO/PR). [2]Professor titular do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO/PR). [3]Aluno de graduação do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO/PR).

RESUMO

O uso de aditivos alimentares a base de parede celular de leveduras (PCL) já vem sendo estudo com o intuito de favorecer o crescimento de bactérias benéficas intestinais em detrimento das patogênicas em ruminantes, e com isso, diminuir quadros de diarreias e aumentar a performance animal. Acredita-se também que esta alteração na microbiota intestinal poderia contribuir com uma menor contaminação da carcaça bovina no momento do abate, fato ainda não estudado em bovinos de corte. Deste modo o presente trabalho objetiva verificar se o prebiótico a base de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* reduz coliformes totais, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp das fezes e da carcaça bovina no momento do abate após a evisceração. Para tanto, 18 novilhos, ½ sangue Angus terminados em confinamento foram submetidos a três tratamentos diários durante 105 dias: controle (dieta sem leveduras), levedura 4g (dieta com 4g/animal/dia, de 2 x 10^{10}cel/g de *Saccharomyces cerevisiae* comercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brasil), levedura 7g (dieta com 7g/animal/dia, de 2 x 10^{10}cel/g de *Saccharomyces cerevisiae* comercial RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brasil). Nos dias 29 e 90 após a entrada no confinamento, fez- se as análises a partir de amostras de fezes, couro, água e alimento para contagem de *Escherichia coli* e coliformes totais e isolamento de *Salmonella* spp. baseado na metodologia descrita pelo fabricante Petrifilm 3M®. No dia do abate, realizou-se coleta nas carcaças para identificação e quantificação de *Escherichia coli*, coliformes totais, mesófilos pela mesma metodologia e identificação qualitativa de *Salmonella* spp. pela metodologia ISO 6579/2017. Notou-se redução de *Escherichia coli* e coliformes totais nas amostras de fezes (P=0,0001 e
0,001 respectivamente) e de *Escherichia coli,* coliformes totais e aeróbios mesófilos na carcaça (P=0,06; 0,10 e 0,05 respectivamente) nos grupos tratados com as duas doses do prebiótico, e que houve ausência de *Salmonella* spp. em todas as coletas realizadas. Concluiu- se que a suplementação com 4 ou 7 g/dia de PCL reduziu a excreção fecal e consequentemente, a contaminação da carcaça pela *Escherichia coli*, mesófilos e coliformes totais dos animais confinados, sendo uma medida sanitária benéfica e livre de resíduos para melhorar a qualidade microbiológica da carne.

PALAVRAS CHAVE: levedura, microrganismos, frigorífico

ABSTRACT

The use of yeast cell wall feed additives (YCW) has already been studied with the aim of favouring the growth of beneficial intestinal bacteria to the detriment of pathogens in

ruminants, thus decreasing diarrhoea and increasing animal performance. It is also believed that this alteration in the intestinal microbiota could contribute to a lower contamination of the bovine carcass at the time of slaughter, a fact not yet studied in beef cattle. Therefore, the present study aims at verifying if the prebiotic cell wall base of Saccharomyces cerevisiae reduces total coliforms, Escherichia coli and Salmonella spp from the feces and the bovine carcass at the time of slaughter after evisceration. For this purpose, 18 steers, ½ Angus blood, confined, were submitted to three daily treatments during 105 days: control (diet without yeast), yeast 4g (diet with 4g/animal/day, with the product RumenYeast®), yeast 7g (diet with
7g/animal/day, with the product RumenYeast®). On the 29th and 90th days after entering the confinement, samples of feces, leather, water and food were collected for counting of Escherichia coli and total coliforms and isolation of Salmonella spp. based on the methodology described by the manufacturer Petrifilm 3M®. On the day of slaughter, the carcasses were collected for identification and quantification of Escherichia coli, total coliforms, mesophils by the same methodology and qualitative identification of Salmonella spp. by ISO 6579/2017 methodology. Reduction of Escherichia coli and total coliforms in stool samples (P=0.0001 and 0.001 respectively) and Escherichia coli, total coliforms and mesophilic aerobes in the carcass (P=0.06; 0.10 and 0.05 respectively) were noted in the groups treated with the two doses of the prebiotic, and that there was absence of Salmonella spp. in all collections performed. It was concluded that supplementation with 4 or 7 g/day of PCL reduced the fecal excretion and consequently the contamination of the carcass by Escherichia coli, mesophils and total coliforms of the confined animals, being a benign and residue-free sanitary measure to improve the microbiological quality of the meat.

KEYWORDS: yeast, microorganisms, fridge.

1 INTRODUÇÃO

A partir de 1980, a terminação de bovinos em confinamento para produção de carne passou a ter expressão no país, devido as vantagens desse sistema como terminação precoce dos animais, maior rendimento de carcaça, carne de melhor qualidade, maior número de animais por área além de retorno mais rápido do capital de giro investido na engorda (ABIEC, 2018;Wedekin et al., 1994).

Desta maneira, este sistema tem atraído o interesse dos pecuaristas por tecnologias que maximizem a eficiência da utilização de alimentos pelos animais confinados. Neste sentido, cita-se a utilização de aditivos alimentares que modulam o ambiente ruminal, destacando-se os probióticos, em especial as leveduras vivas ou em fragmentos (Fereli et al., 2010; Morais et al., 2011). Os mais utilizados na alimentação bovina é a *Saccharomyces cerevisiae,* que reduz a acidificação do ambiente ruminal por estimular o crescimento de bactérias utilizadoras de ácido lático. Este ácido graxo de cadeia curta é o principal responsável pela acidificação do rúmen quando a alimentação contém concentrado acima de 50%, o que pode ocasionar a síndrome da acidose ruminal subaguda responsável por queda de desempenho e ocorrência de doenças debilitantes (Owens et al., 1984).

Além disso, os fragmentos de parede celular de levedura (PCL) *Saccharomyces cerevisiae* possuem polissacarídeos em sua composição, como glucana e mananooligossacarideos que adsorvem bactérias e por consequência, reduzem a colonização de patógenos no ambiente gastrointestinal, além de ativarem os fagócitos, maximizando o sistema imune do animal (Broadway et al., 2015).

O incremento do sistema imune já foi evidenciado em bovino leiteiro, quando a administração diária de culturas de *S. cerevisiae* aumentou a digestibilidade de nutrientes, a

imunidade e o crescimento de novilhas (Ghazanfer et al., 2015) e o aumento de proteínas e gordura láctea, bem como a redução da contagem de células somáticas no leite de vacas durante o meio da lactação (Nocek et al., 2011). No entanto, para gado de corte confinado, estas leveduras quando administradas vivas, não promoveram melhoria na performance nem na qualidade de carcaça dos animais (Gomes et al., 2011).

Similarmente, a influência de *Saccharomyces cerevisiae* na microbiota intestinal também já foi estudado em ruminantes. Ghazanfer et al. (2015) verificaram que o prebiótico não provocou redução significativa de coliformes fecais em bezerro, enquanto que Stella et al., (2007) verificaram que a utilização da levedura viva reduziu significativamente a excreção fecal de *E. coli* em cabras leiteiras.

Possivelmente estas divergências ocorrem devido a diferentes formulações e dosagens existentes no mercado, o que torna necessário que cada nova formulação seja testada com o intuito de verificar seus benefícios.

De acordo com Jardim et al. (2006), animais oriundos de criação extensiva possuíram maior quantidade de sujidades e microrganismos na pele, o que promoveu maior contaminação de carcaça após a esfola quando comparado àqueles de confinamento. Em contrapartida, Casagrande et al. (2012), ressaltam que animais confinados submetidos a dieta mais energéticas podem albergar mais *E. coli* genérica na microbiota gastrointestinal, o que pode ter contribuído para maior contaminação da carcaça por este agente no momento do abate.

Logo, qualquer medida que não gere resíduos de antibiótico na carcaça e que ainda reduza sua contaminação se faze importante para que o produto final possua qualidade sanitária, maior tempo de prateleira e menor possibilidade de ser um transmissor de doenças.

Baseado na premissa de que os prebióticos a base de *S. cerevisiae* contribuem para o aumento da imunidade dos animais (Martins et al., 2005) e favorecem o crescimento de colônias benéficas em detrimento das patogênicas no ambiente gastrointestinal (Ghazanfer et al., 2015), o objetivo deste estudo foi avaliar se o uso oral do prebiótico a base de PCL de *Saccharomyces cerevisiae* reduz a excreção fecal de *E. coli*, coliformes totais e *Salmonella* spp. e por consequência, minimiza a contaminação de carcaças bovinas no abate, após a evisceração.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Núcleo de Produção Animal (NUPRAN) junto ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), localizada em Guarapuava-PR e foi aprovada pelo CEUA 048/2018.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por três grupos: Controle (n=6); Lev 4 g (dieta com 4 g de levedura por animal dia^{-1}, n=6) e Lev 7 g (dieta com 7 g de levedura por animal dia^{-1}, n=6). O produto utilizado foi a PCL de2 x10^{10} cel/grama de *Saccharomyces cerevisiae* comercial (RumenYeast®, ICC, São Paulo, Brasil).

O lote avaliado foi composto por 18 animais meio sangue Angus, de aproximadamente 350 kg de peso vivo e 11 meses de idade, dispostos em 9 baias contendo 2 animais por baia, em sistema de confinamento, com área de 15 m^2 cada (2,5 m x 6,0 m). Cada baia possuía um comedouro de concreto medindo 2,30 m de comprimento, 0,60 m de largura e 0,35 m de profundidade, e um bebedouro metálico regulado por boia.

Os animais foram previamente vermifugados com albendazol via oral e transportados de uma propriedade criatória para a unidade experimental à aproximadamente 50 km de distância. Após um período de adaptação às instalações experimentais durante 15 dias,

iniciou-se a suplementação diária das leveduras conforme os grupos (momento 0 – M0) até o final do experimento (104 dias), sendo o produto liofilizado adicionado uma vez ao dia, em cima da dieta total do animal, logo após o enchimento do cocho. Aos 105 dias de experimento, os animais foram abatidos em abatedouro comercial

A dieta servida no confinamento era a mesma da propriedade de origem, sendo composta por 5% de pré-secado de azevém, 35% de silagem de milho e 60% de concentrado comercial, na base seca, *ad libtum*. Para fabricação do concentrado foram utilizados os seguintes alimentos: farelo de soja, casca de soja, radícula de cevada, grãos de milho moído, calcário calcítico, fosfato bicálcico, sal comum, ureia pecuária e premix vitamínico-mineral. A administração dos alimentos deu-se às 06:00 e às 17:30 horas, na forma de ração totalmente misturada (RTM). O consumo voluntário dos alimentos foi registrado diariamente pela pesagem da quantidade oferecida e das sobras do dia anterior, para realizar-se o ajuste do consumo diariamente, mantendo-se 5% da matéria seca (MS), (Tabela 1).

Tabela 1. Composição nutricional dos alimentos utilizados na alimentação dos animais e valores médios da dieta experimental, com base na matéria seca total.

Parâmetro	Pré-secado de azevém (5%)	Silagem de milho (35%)	Concentrado (60%)	Dieta experimental[1]
Matéria seca, % MN	57,35	40,63	90,40	71,33
Matéria mineral, % MS	5,59	2,51	6,36	4,97
Proteína bruta, % MS	12,43	8,44	20,20	15,70
Extrato etéreo, % na MS	3,28	2,65	2,05	2,32
Fibra em detergente neutro, % MS	48,89	46,14	31,47	37,48
Fibra em detergente ácido, % MS	37,89	25,98	13,08	18,84
Lignina, % MS	6,90	3,43	4,73	4,38
Nutrientes digestíveis totais, % MS	54,74	68,66	78,68	73,98
Ca, % MS	0,58	0,14	1,67	1,08
P, % MS	0,26	0,22	0,58	0,44

[1] Nível de garantia do premix por kg de concentrado: vit. A: 16000 IU; vit D3: 2000 IU; vit. E: 25 IU; S: 0,36 g; Mg: 0,74 g; Na: 3,6 g; Co: 0,52 mg; Cu: 22,01 mg; F: 18,00 mg; I: 1,07 mg; Mn: 72,80 mg; Se: 0,64 mg; e Zn: 95,20 mg.

2.1 Coleta e preparo das amostras

Nos dias 29 (momento 1 – M1) e 90 (momento 2 – M2) em relação ao início da administração das leveduras, coletou-se amostras de fezes, água, alimento e couro para contagem de *Escherichia coli*, Coliformes Totais e isolamento de *Salmonella* spp. No dia 105 (momento 3 – M3), realizou-se análise microbiológica nas carcaças para quantificação mesófilos, *Escherichia coli*, Coliformes Totais e identificação de *Salmonella* spp.

Para tanto, amostras de fezes foram colhidas individualmente da ampola retal dos animais com luva estéril. As amostras microbiológicas do couro foram obtidas por meio de zaragatoas estéreis de uma área total de 200 cm^2 /animal das regiões escapulares e do flanco dos animais de cada lado. As zaragatoas foram acondicionadas em pool de acordo com os grupos experimentais em solução transporte (APT 0,1%). Coletou-se também 100 mL de água e 100g de alimento de duas baias aleatoriamente.

As amostras de carcaça no dia do abate foram colhidas na sala de matança logo após a evisceração e divisão das carcaças, antes da lavagem das carcaças. A colheita se deu por meio de zaragatoas estéreis, aplicadas em área de 100 cm^2/ região, nas áreas escapulares e flanco no lado externo da superfície de cada meia carcaça, conforme Figura 1 (Comissão Comunidade Europeia, 2005). Da mesma forma, as zaragatoas foram transferidas a um tubo de ensaio

contendo solução APT 0,1%.

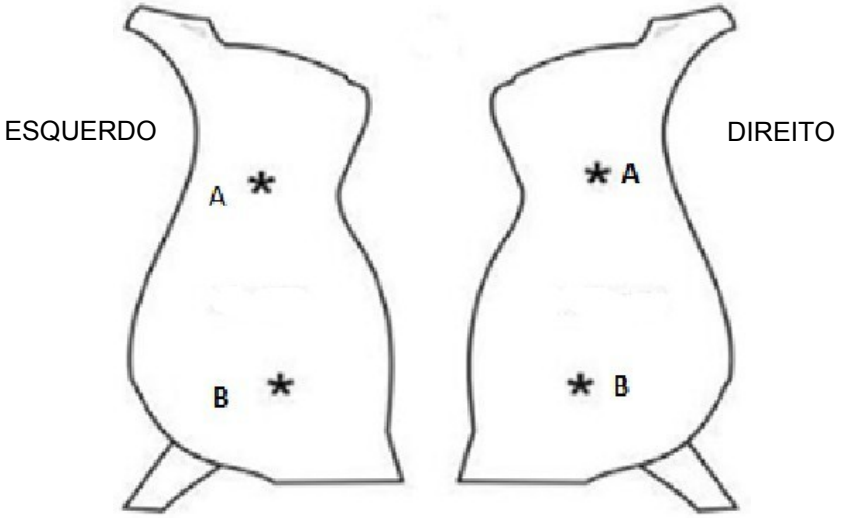

Figura 1. Esquema representativo de meia carcaça bovina com indicação dos pontos no lado externo (pontos A* e B*) onde foi feita a coleta de amostras superficiais em áreas delimitadas de 100 cm^2 (10 cm x 10 cm).

O material foi encaminhado em temperatura de até 4°C ao laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da UNICENTRO e ao Centro de Diagnóstico Agroindustrial. Para a quantificação de coliformes totais, *Escherichia coli* e bactérias aeróbias mesófilas, foram feitas diluições seriadas conforme a IN nº 62 (Brasil, 2003).

A amostra de água, sofreu um processo de neutralização do cloro para impedir a continuação do efeito bactericida, adicionando-se 0,1 mL de solução de 10% de tiossulfato de sódio (Na2S2O3), para cada 100 mL de amostra coletada (concentração final =100mg/l), neutralizando 15 mg de cloro residual por litro da amostra.

2.2 Análises microbiológicas

2.2.1 Contagem de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

As contagens de Coliformes Totais e *Escherichia coli* foram realizadas em placas Petrifilm (6404, E. coli/Coliform, 3M, São Paulo, Brasil). Alíquotas de 1mL das de cada diluição seriada foram inoculadas nas placas Petrifilm, incubadas à 35ºC por 48h. Colônias vermelhas e azuis avermelhadas apresentando produção de gás foram consideradas Coliformes Totais, e as colônias azuis com produção de gás foram identificadas como *Escherichia coli*. Os resultados das contagens de água, alimento e couro foram expressos em unidades formadoras de colônia (UFC) por mL, g e cm^2 respectivamente, enquanto as de carcaça e fezes, em log UFC por cm² e g respectivamente.

.

2.2.2 Isolamento de *Salmonella*

2.2.2.1 Couro, fezes, água e alimento

O isolamento da *Salmonella* spp foi realizado pela metodologia AOAC 998.08, e Petrifilm (6536, SALX, Salmonella Express, 3M, São Paulo, Brasil).

Inicialmente preparou-se uma diluição 10^{-1} a partir da amostra de fezes, couro, água e alimento, adicionando-se o meio de enriquecmento de *Salmonella* (3M, São Paulo, Brasil), com posterior incubação de 41,5°C por 18 a 24 h.

Nas amostras de fezes por serem muito contaminadas, após a incubação, retirou-se 0,1

mL e adicionou-se à 10 mL do caldo Rappaport e Vassiliadis (RVS), homogeneizando-o e incubando a 41,5°C por 18 a 24 h.

Para ambos os casos, após o período de incubação, retirou-se uma aliquota por meio da alça de platina estéril, estriando nas placas Petrifilm, as quais foram levadas à estufa por 41,5°C por 18 a 24 h.

Posteriormente, as placas com colônias presuntivas de *Salmonella* (vermelhas amarronzadas com zona amarela, com associação de gás ou bolha), foram identificadas. Colocou-se o disco de confirmação de *Salmonella* , (3M, São Paulo, Brasil). e levou-se à estufa a 41,5°C por 4-5 h. Posteriormente fez-se a leitura, considerando colônias: verde azulado, escuras ou enegrecidas como positivas, conforme recomendação do fabricante.

2.2.2.2 Carcaça

Para identificação de *Salmonella* em amostras de carcaça, baseou-se na metodologia ISO 6579/2017.

No processo de pré-enriquecimento não seletivo, incubou-se a suspensão inicial (25g da amostra em 225mL APT 1%), a 36 (±2 °C) por 18h ±2 h.

Para o enriquecimento, transferiu-se 0,1 mL da amostra diluída e incubada para um tubo contendo 10 mL do caldo Rappaport e Vassiliadis (RVS); o qual foi incubado em banho- maria a 41,5 (± 1°C) por 24 h ± 3h. Transferiu-se também 1 mL da amostra diluída e incubada para um tubo com 10 mL de Muller-Kauffmann (MKTTn) com 0,2 mL de iodeto de iodo, incubando a 37 (± 1°C) por 24 h ± 3h.

Após a incubação, estriou-se por meio de uma alça, 10 uL da cultura obtida no meio RVS, para duas placas de Ágar Brilliant green phenol-red lactose sucrose (BPLS) e duas placas de Ágar de Desoxicolato-lisina-xilose (XLD). Da mesma forma, estriou-se aproximadamente 10 uL da cultura obtida no meio MKTTn, para duas placas de BPLS e duas de XLD. Incubou-se as placas à temperatura de 37 ± 1° C por 24h ± 3h.

Após a incubação, realizou-se a leitura das placas, procurando presença de colônias típicas e atípicas de *Salmonella,* sendo que no meio BPLS colônias positivas apresentam aspecto incolor, rosado, translúcido ou opaco; e no meio XLD aspecto translúcido e centro negro com fundo róseo ou avermelhado. Caso fossem encontradas colônias com essas características, as mesmas seriam confirmadas por testes bioquímicos.

2.2.3 Contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada em Petrifilm (RAC, Rapid Aerobic Count, 3M, São Paulo, Brasil).

Inoculou-se 1,0 mL das diluições seriadas na superfície das placas Petrifilm e em seguida incubou-se à 35ºC por 48h.

A leitura foi realizada por meio da contagem em placas contendo entre 30 e 300 colônias consideradas positivas (vermelhas), conforme recomendação do fabricante. Os resultados foram expressos em UFC por g, cm² e/ou mL.

Para limite de detecção mínimo de aeróbios mesófilos, considerou-se 2UFC/cm².

2.3 Análise estatística

Os resultados das contagens dos microrganismos das fezes e superfície de carcaças bovinas foram submetidos ao programa estatístico Graphpad Instat, com aplicação do teste T para amostras pareadas para a interação tempo e anova para amostras não pareada, com pós teste de Tukey para a interação tratamento, a um nível de significância $p \leq 0,05$.

Nos resultados das contagens de aeróbios mesófilos, o valor de 1,00 log10 UFC/cm² foi adotado nas análises estatísticas, quando o resultado obtido era ausência de aeróbios mesófilos. Nos resultados das contagens de coliformes totais e *E. coli*, o valor de 0,40 log10 UFC/cm² foi adotado nas análises estatísticas, quando o resultado obtido era ausência de coliformes totais ou ausência de *E. coli*. Estes valores foram determinados baseados no limite de detecção das análises microbiológicas.

3 RESULTADOS

As contagens médias de *E. coli* e coliformes totais na microbiota fecal dos bovinos submetidos aos diferentes tipos de tratamento pela suplementação da levedura *S. cerevisiae* estão expressas na Tabela 2.

Notou-se que, em relação à *E. coli*, a microbiota das fezes era igual entre os grupos no M1 e apenas o grupo lev 7 g apresentou redução das contagens em comparação aos grupos controle e lev 4 g no M2 (P=0,0008). Quanto à interação tempo, o grupo lev 4g demonstrou tendência à diminuição de microrganismos excretados nas fezes em relação ao M1 (P=0,08). Já o grupo lev 7 g apresentou diminuição estatística da excreção fecal de *E. coli* (P= 0,02) em relação ao M1.

Quanto aos coliformes totais, notou-se que a microbiota das fezes era igual entre os grupos no M1; já em M2, apenas o grupo lev 7 g apresentou redução das contagens em comparação ao grupo controle e lev 4 g (P=0,008) na interação tratamento. Já em relação ao tempo, todos os grupos apresentaram redução estatística dos microrganismos na excreção fecal no M2 em comparação ao M1 (P=0,006, 0,05 e 0,003, para controle, lev 4 g e lev 7 g, respectivamente).

Tabela 2. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* nas contagens de *E. coli* e coliformes totais na microbiota fecal (log UFC/g de fezes) de bovinos confinados.

Grupos		M1	M2	EPM	P tempo	P tratamento x tempo
E. coli	Controle	3,29aA	3,31aA	0,08	0,17	0,0001
	Lev 4 g	3,23aA	3,21aAB	0,11	0,08	
	Lev 7 g	3,27aA	2,56bB	0,15	0,02	
	P tratamento	0,89	0,0008			
Coliformes totais	Controle	5,76aA	5,51bA	0,05	0,006	0,001
	Lev 4 g	5,77aA	5,58bA	0,07	0,05	
	Lev 7 g	5,76aA	5,23bB	0,08	0,03	
	P tratamento	0,91	0,008			

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística na interação tempo, Teste T, letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística, para interação tratamento, P<0,05%. M1: momento 1, M2: momento 2, EPM: erro padrão de média, Lev 4g: levedura 4g/animal; Lev 7g: levedura 7g/animal.

Não houve isolamento de *Salmonella* spp na microbiota fecal dos bovinos, submetidos aos diferentes tipos de tratamento pela suplementação da levedura *S. cerevisiae.*

Os resultados referentes ao pool de amostras coletadas do couro estão expostos na Tabela 3. É possível verificar que houve aumento de contaminação nos animais do grupo controle, lev 4g e lev 7g, tanto para coliformes quanto para *E. coli*. Não houve identificação de *Salmonella* spp. no couro dos bovinos.

Na Tabela 4 encontram-se os resultados das amostras de água e alimento em M1 e M2. Nota-se que os níveis de contaminação tanto de *E. coli*, quanto de coliformes totais aumentaram na água ao longo do tempo. Contudo, na análise do alimento, não houve

contaminação de coliformes totais, nem de *E. coli* em nenhum dos dois momentos. Não houve isolamento de *Salmonella* spp. na água ou alimento da baia selecionada no M2.

As contagens médias de *E. coli,* coliformes totais e mesófilos na superfície da carcaça dos bovinos submetidos aos diferentes tipos de tratamento pela suplementação da levedura *S. cerevisiae* estão expressas na Tabela 5. Pode-se notar que o grupo controle apresentou tendência (P=0,06), (P=0,10) ou significância (p=0,05) a possuir maior contaminação de carcaça que os demais grupos em relação a *E. coli,* coliformes totais e mesófilos.

Tabela 3. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* na contagem de *E. coli* e coliformes totais em pool de couro de bovinos confinados (log10/cm²)

Grupos		M1	M2
E. coli	Controle	<1,00	2,17
	Lev 4 g	1,30	2,08
	Lev 7 g	1,44	1,95
Coliformes totais	Controle	<1,00	2,14
	Lev 4 g	2,11	2,28
	Lev 7 g	1,70	2,38

M1: momento 0, M2: momento 1, Lev 4g: levedura 4g/animal; Lev 7g: levedura 7g/animal.

Tabela 4. Contagens de *E. coli* e coliformes totais em água e alimento de uma baia do confinamento (log UFC/g).

Amostra	Microrganismos	M1	M2
Água	*E. coli*	<1,0	2,04
	Coliformes totais	<1,0	2,14
Alimento	*E. coli*	<1,0	<1,0
	Coliformes totais	<1,0[1]	<1,0[1]

M1: momento 1, M2: momento 2.

Tabela 5. Efeito da suplementação de *S. cerevisiae* nas contagens de *E. coli,* coliformes totais e mesófilos na superfície de carcaça (log10/cm²) de bovinos confinados.

Grupos		M3	EPM	P
E. coli	Controle	0,55A	0,16	0,06
	Lev 4 g	0,20A	0,08	
	Lev 7 g	0,20A	0,06	
Coliformes totais	Controle	0,76A	0,2	0,10
	Lev 4 g	0,31A	0,17	
	Lev 7 g	0,25A	0,16	
Mesófilos	Controle	1,60A	0,12	0,05
	Lev 4 g	1,20B	0,13	
	Lev 7 g	1,24B	0,11	

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os grupos, Teste de Tukey, P<0,05%. M3: momento 3, EPM: erro padrão de média, Lev 4g: levedura 4g/animal; Lev 7g: levedura 7g/animal.

Similarmente às amostras fecais, não houve isolamento nem identificação de *Salmonella* spp. na superfície da carcaça dos bovinos.

4 DISCUSSÃO

Notou-se que a suplementação de PCL de *S. cerevisiae* promoveu redução da excreção

fecal de *E. coli* e coliformes totais com maior expressividade quando utilizada a dosagem maior. Tais resultados são semelhantes com os encontrados por Stella et al. (2006), que notaram que a suplementação com *S. cerevisiae* viva por 30 dias, reduziu a presença de coliformes totais e *E. coli* na microbiota fecal de caprinos jovens (0,46 e 1,62 log10/g de fezes, respectivamente).

Da mesma forma, Ghazanfer et al. (2015) encontraram redução de aproximadamente 0,478 log10 UFC/g na presença de coliformes totais nas fezes, após suplementar novilhas *S. cerevisiae* viva (5g/dia) durante 90 dias. Embora não tenham sido encontrados experimentos com suplementação de fragmentos de parede de levedura na dieta de ruminantes, acredita-se que tanto a levedura viva como em fragmentos, contém polissacarídeos responsáveis pela adsorção das bactérias gastrointestinais, o que reduz a contaminação da região (Broadway et al., 2015).

O fato da contaminação por *E. coli* e coliformes fecais aumentarem na água e couro nos três grupos ao longo do tempo sugere uma contaminação ambiental, o que já foi exposto por Moscardi Jr. (2005). Pereira e Dutra (2012) notaram que o confinamento bovino promove concentração de animais em um espaço demasiado pequeno e as condições de baia, como cama, bebedouros e comedouros, bem como um manejo sanitário deficiente favorecem maior índice de contaminação ambiental e consequentemente maior sujidade da pele. Em contrapartida Jardim et al. (2006) verificaram que bovinos mantidos a pasto apresentaram maior contaminação do couro que os confinados.

Segundo Bacon et al. (2000), carcaças com contagens aceitáveis são aquelas com médias de 4,1 a 7,1 log10 UFC/cm² para aeróbios mesofilos totais, 1 a 4 log10 UFC/cm² para coliformes totais e 0,6 a 3,3 log10 UFC/cm² para *E. coli.* Nos trabalhos de Jardim et al. (2006) e Bell (1997) foram encontrados valores menores, como 2; 0,40 e 0,40 log10 UFC/cm² respectivamente para os microrganismos citados, sendo estes valores próximos aos encontrados no presente estudo.

Essa diferença nas contagens pode ser explicada pela aplicabilidade dos programas de autocontrole nas diferentes etapas do abate, como: limpeza e sanitização do ambiente e equipamentos industriais, qualidade de água de abastecimento, controle de pragas, saúde e higiene dos operários, o controle de temperatura, e APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) (BRASIL, 2005).

Vale ressaltar que outros fatores também favorecem a contaminação das carcaças, como o transporte e o estresse dos animais vivenciado na inspeção *ante-mortem,* o que pode reduzir a imunidade da pele e favorecer a colonização de patógenos ambientais na região (Fontoura et al., 2006; Brandão et al., 2012). Por isso, as etapas mais críticas para contaminação da carcaça bovina são durante a esfola e a evisceração, onde a pele e as vísceras podem entrar em contato com a carne, carreando diversos microrganismos patogênicos (Roça,
1993; Brandão et al., 2012). Desta maneira, o sistema de criação dos bovinos bem como a alimentação destes animais podem minimizar esta contaminação (Jardim et al., 2006; Casagrande et al., 2012).

Em relação a avaliação de *Salmonella* sp., Matos et al. (2013), estudaram 100 carcaças e em nove, houve o isolamento de *Salmonella* sp., ao contrário do presente trabalho, onde não se isolou o microrganismo. Esse fato pode estar relacionado com o controle ambiental da bactéria, assim como a possível ausência da sua ocorrência na região.

Como a contaminação do ambiente e couro aumentou, e as contagens microbiológicas nas fezes diminuíram com o uso das leveduras, acredita-se que baixas contagens na carcaça estão ligadas à redução da contaminação fecal. Tal achado é compatível com Elder et al. (2002), que determinaram a mesma correlação ao avaliar a presença de *E. coli* O157 em fezes,

couro e carcaças de bovinos de corte.

Desta maneira, torna-se benéfico a implantação de protocolos de manejo que respeitem o bem-estar dos animais, preservem sua integridade física e busquem minimizar o impacto da microbiota fecal no processamento de abate e consequentemente reduzir a carga bacteriana nas carcaças, sem promover resíduos de antibiótico nos produtos de origem animal (Bell., 1997; Bacon et al., 2000; Elder et al., 2000). Além disso, a quantificação dos microrganismos presentes nas carcaças se torna um fator importante para determinar a eficiência do manejo sanitário dentro do frigorífico, bem como a qualidade e tempo de prateleira da carne, reduzindo assim a incidência de doenças transmissíveis por alimento (Fontoura et al., 2010; Martineli et al., 2011).

5 CONCLUSÕES

Ao final deste estudo foi possível concluir que a suplementação com fragmento de parede de levedura promoveu redução da excreção fecal de coliformes totais e *Escherichia coli*, o que favoreceu a menor contaminação destes agentes na carcaça após a evisceração, sendo a dosagem maior (7g/dia) a mais efetiva.

Assim, a adoção da suplementação com leveduras autolisadas em bovinos confinados favorece um melhor controle sanitário e redução dos índices de contaminação na linha de produção de carne bovina, refletindo em menores riscos de doenças transmitidas por alimento.

REFERÊNCIAS

ABIEC 2018. Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual. Disponível em: http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf. Acesso em 18 de novembro de 2019;

Alves, A. R. F. (2012). *Doenças alimentares de origem bacteriana* (Dissertação de mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Porto.

Bacon, R. T., Belk, K.E., Sofos, J.N., Clayton, R.P., Reagan, J.O. & Smith, G.C. (2000). Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *Journal of Food Protection,* 63(8), 1.080-1.086.

Bell, R. G. (1997). Distribuiton and sources of microbial contamination on beef carcasses.
*Journal of Applied Microbiology***,** Oxford, 82, 292-300.

Bonato, D. V., Neumann, M., Ueno, R. K., Heker Junior, J. C., Horst, E. H., Carneiro, M. K., Poczynek, M., Ruths R., Figueira, D. N. & Teixeira, P. P. M. (2015). Uso de leveduras vivas (Saccharomyces cerevisiae) na dieta de bovinos. *Investigação*, 14(1), 1-7.

Borges, J. T. S. & Freitas, A. S. (2002). Aplicação do sistema Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) no processamento de carne bovina fresca. *B. Ceppa*, Curitiba, 20(1), 1-18.

Brasil. (2011). *Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2011*. Disponível em:
http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 30 de novembro de 2019.

Brandão, J. L., Guirro, E. C. B. P., Pinto, P. S. A., Nero, L. A., Pinto, J. P. A. N. & Bersot, L. S. (2012). Monitoramento de micro-organismos indicadores de higiene em linha de abate de bovinos de um matadouro-frigorífico habilitado à exportação no oeste do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33(2), 755-762.

Cardoso, A. L. S. P., Tessari, E. N. C., Castro, A. G. M., Kanashiro, A. M. I. & Gama, N. M. S. Q (2001). *Arq. Inst. Biol.,* São Paulo, 68 (1), 19-22.

Carvalho, I. T. (2010). *Microbiologia dos Alimentos.* Recife: EDUFRPE

Casagrande, L., Detanico, C. M. T. & Franco, R. M. (2012). Ocorrência de *Escherichia coli* em meias carcaças de bovinos abatidos em estabelecimento habilitado para exportação. *Ciência Rural,* Santa Maria, online, disponível em: http://www.scielo.br/pdf/cr/2013nahead/a17113cr6764.pdf.

Cristani, J. (2008). *Acidificantes e prebióticos na alimentação de leitões recém desmamados.* (Tese de doutorado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

Del Rio, D. T. (2004). *Biossorção de cádmio por leveduras – Saccharomyces cerevisiae.*
(Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Duffy, G., Cummins, E., Nally, P., O'brien, S. & Butler, F. (2006). A review of quantitative microbial risk assessment in the management of *Escherichia coli* O157:H7 on beef. *Meat Science*, 74, 76-88.

Euclides Filho, K., Correa, E. S. & Euclides, V. P. B. Boas Práticas na Produção de Bovinos de Corte (1. Ed.). Campo Grande: Embrapa Bovinos de Corte.

Elder, R. O., Keen, J. E., Siragusa, G. R., Barkocy-Gallagher, G. A., Koohmarale, M. & Laegred, W. W. (2000). Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *PNAS,* 97, 2999-3003.

Fereli, F., Branco, A. F., Jobim, C. C., Coneglian, S. M., Granzotto, F. & Barreto, J. C. (2010). Monensina sódica e Saccharomyces cerevisiae em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 183-190.

Fontoura, C. L., Rossi Júnior, O. D., Martineli, T. M. & Cereser, N. D. (2010). Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. *Arq. Inst. Biol.,* 77 (2), 189-193.

França, R. A. & RIGO, E. J (2011). Utilização de leveduras vivas (Saccharomyces cerevisiae) na nutrição de ruminantes – uma revisão. *FAZU em Revista*, 1(8), 187-195.

Franco, B. D. G. M. F & Landgraf, M. (2008). Microbiologia Dos Alimentos. In: Landgraf, M. Microorganismos indicadores. Ed. Atheneu, cap.3, p. 27-31, 2008.

Ghazanfer, S., Anjum, M. I., Azim, A. & Ahmed, I. (2015). Effects of dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on growth performance, blood parameters, nutrient digestibility and fecal flora of dairy heifers. *J. Anim. Plant Sci.* 25(1), 53-59.

Geus, J. A. M. & Lima, I. A. (2006). Análise de coliformes totais e fecais: Um Comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes. *II Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais*, Ponta Grossa, Brasil.

Gomes, R. C., Antunes, M. T., Silva, S. L. & Leme, P. R. (2011). Desempenho e digestibilidade de novilhos zebuínos confinados recebendo leveduras vivas e monensina. *Arch. Zootec.,* 60 (232), 1077-1086.

Guedes, J. M. (2006). *Análise da qualidade da carne bovina em mercados varejistas no município de Brasília-DF* (Monografia). Universidade de Brasília, Brasília.

Jardim, F. B. B. (2005). *Influência dos sistemas de alimentação de bovinos em pastagem ou confinamento na contaminação microbiana da pele e carcaça.* (Dissertação de Mestrado). UNICAMP, Campinas.

Jardim, F. B. B., Silva, E. N., Okura, M. H. & Ramos, M. A. (2006). Influência dos sistemas de pastagem e confinamento na contaminação microbiana de carcaças bovinas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.,* 26(2), 277-282.

Jericho, K. W. F., Kozub, G. C., Bradley, J. A., Gannon, V. P. J., Gosteyn-Thomas, E. J., Gierus, M., Nishiyama, B. J., King, R. K., Tanaka, E. E., D'Souza, S. & Dixon-MacDougall,

J. M. (1996). Microbiological verification of the control of the processes of dressing, cooling and processing of beef carcasses at a high line-speed abattoir. *Food Microbiology*, 13, 291-301.

Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. (2005). *Circular 175 de 16 de maio de 2005.* Disponível em: http://dzetta.com.br/info/wp-content/uploads/2011/06/dzetta- Circular-175-de-16-de-maio-de-2005.pdf. Acesso em: 29 de novembro de 2019.

Mathew, A. G., Sutton, A. L. & Scheidt, A. B. (1993). Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weanling pig. *Journal of Animal Science*, 71(6), 1503-1509.

Matos, A. V. R., Nunes, L. B. S., Vianna, C., Spina, T. L. B., Zuim, C. V., Possebon, F. S., Xavier, D. M., Ferraz, M. C., Pinto, J. P. A. N. (2013). *Listeria monocytogenes, E. coli* O157, *Salmonella* spp. e microrganismos indicadores em carcaças bovinas para exportação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.,* 65 (4), 981-988.

Martins, F. S., Tiago, F. C. P., Barbosa, F. H. F., Penna, F. J., Rosa, C. A., Nardi, R. M. D., Neves, M. J. & Nicoli, J. R. (2005). Utilização de leveduras como prebióticos. *Revista de Biologia e ciências da Terra,* 5(2).

Mcallister T. A., Beauchemin K. A., Alazzeh A. Y., Baah J., Teather R. M. & Stanford K. (2011) Review: the use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 91, 93- 211.

Mead, P. S. & Griffin, P. M. (1998). *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet*, 352, 1207-1212.

Morais J. A. S., Berchielli T. T. & Reis R. A. (2011). Aditivos. In: Nutrição de ruminates. 2.ed. (Eds Berchieli TT, Pires AV, Oliveira SG). p.565-599 (Funep: Jaboticabal).

Nocek, J. E., Holt, M. G. & Oppyt, J. (2011). Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94, 4046-4056.

Oliveira, S., Silva, J. A., Maciel, J. F. & Aquino, J. S. (2008). Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa. *Alim. Nutr.*, Araraquara, 19(1), 61-66.

Owens, F. N., Secrist, D. S. & Hill, W. J. (1984). Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, Albany, 76, 1164-1166.

Parish, M. E. (1998). Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars associated with a Citrus-Processing facility implicated in a salmonellosis outbreak. *Journal of food protection*, 61(3), 280-284.

Pereira, F. B. & Dutra, I. S. (2012). Diagnóstico de situação das práticas de manejo sanitário em sistemas de produção de bovinos de corte. *Rev. Veterinária e Zootecnia.*

Reid, C. A., Small, A., Avery, S. M. & Buncic, S. (2002) Presence of food-borne pathogens on cattle hides. *Food Control*, Guildford, 13, 411-415.

Roça, R. O. (1993) *Influência do banho de aspersão ante-mortem em parâmetros bioquímicos e microbianos da carne bovina.* (Tese de Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Shinohara, N. K. S., Barros, V. B., Jimenes, S. M. C., Machado, E. C. L., Dutra, R. A. F. & Lima Filho, J. L. (2008). *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Cienc. Saúde Coletiva.* 13(5).

Silva, M. C. (2002). *Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema SimPlate.* São Paulo. (Dissertação de mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

Silva, V. K. (2006). *Extrato de levedura (Saccharomyces cerevisiae) e prebiótico na dieta pré-inicial para frangos de corte criados em diferentes temperaturas.* (Dissertação de

Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
Silva, F. F. P. (2011). *Investigação de Salmonella spp. e microrganismos indicadores em carcaças bovinas durante o processamento em abatedouro – frigorífico* (Dissertação de Mestrado). UFRGS, Porto Alegre.
Souza, L. C., Iaria, S. T., Paim, G. V. & Lopes, C. A. M. (1983). Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais. *Rev. Saúde Públ.* 17, 112-122.
Stadler Junior, E. S., Santos, L. C., Bertagnon, H. G., Virmond, M. P., Souza, A. M., Mizubuti, I. Y., Pontarolo, G. B., Petkowicz, K & Neumann, M. (2019). Performance of feedlot cattle with inclusion of live yeast in the diet. *Semina: Ciências Agrárias,* 40(6), 2733-2748.
Stella, A. V., Paratte, R., Valnegri, L., Cigalino, G., Soncini, G., Chevaux, E., Dell'Orto, V. & Savoini, G. (2007). Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and fecal flora in early lactating dairy goats. *Small Ruminant Research*, 67, 7-13.
Stocco, C. W., Almeida, L., Barreto, E. H. & Bittencourt, J. V. M. (2016). Controle de qualidade microbiológico no processamento de frigorífico bovino. *Rev. Espacios*, 38(22), 9.
Wedekin, V. S. P., Bueno, C. R. F. & Amaral, A. M. P. (1994). Análise Econômica do confinamento de bovinos. *Informações Econômicas*, São Paulo, 24(9).