

T664.
M 538i
1973

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO, SALGA, DESSECAÇÃO E AQUECI-
MENTO SOBRE A SENSIBILIDADE DA IMUNODIFUSÃO PARA DIFE-
RENCIAÇÃO DE CARNES DE BOVINO, EQUINO E SUINO.

BOLIVAR MENDES

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos do Curso de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária (área de Medicina Veterinária Preventiva).

BIBLIOTECA - ESCOLA DE VETERINARIA
Belo Horizonte 08/12/121

Minas Gerais - Brasil

1973

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITARIA



000464928807

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

01/03/04
04/06

APROVADA EM

22/3/74

P. C. Bray

William Brown

Ronalds R.

Aos meus pais,

À minha esposa e filhos

que participaram com apoio
e sacrificio para tornar
possível a execução deste
trabalho, a minha especial
gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na pessoa do Diretor, Professor Mário Barbosa, pela oportunidade de realização do presente curso.

Aos Professores Paulo Caldeira Brant e Ronaldo Reis, pela orientação recebida.

Ao Professor Eduy Catão, pelo estímulo e conselhos recebidos, durante a execução do presente trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Funcionário Lourival Gomes Ribeiro, pela prestimosa colaboração prestada, durante a realização da parte prática dos trabalhos.

LISTA DOS QUADROS

QUADRO I	- Título dos antisoros, pelo teste de imunodifusão em gel, empregando-se como antígenos, soro <u>san</u> guíneo normal das espécies estudadas.	11
QUADRO II	- Resultados da prova de imunodifusão em 27 <u>amos</u> tras de carne fresca, por concentração e por <u>es</u> pécie animal.....	12
QUADRO III	- Resultados da prova de imunodifusão em 27 <u>amos</u> tras de carne salgada, por concentração e por <u>es</u> pécie animal.....	13
QUADRO IV	- Resultados da prova de imunodifusão em 27 <u>amos</u> tras de carne dessecada, por concentração e por <u>es</u> pécie animal.....	14
QUADRO V	- Identificação pelo teste de imunodifusão de 49 amostras de carne <u>frosca</u> de bovino, submetidas à variações de tempo e temperatura.	15
QUADRO VI	- Identificação pelo teste de imunodifusão de 49 amostras de carne fresca de equino, submetidas à variações de tempo e temperatura.	16

QUADRO VII - Identificação pelo teste de imunodifusão de 49
amostras de carne fresca de suino, submetidas à
variações de tempo e temperatura.

17

CONTEÚDO

	<u>PÁGINA</u>
Introdução	1
Revisão da Literatura	3
Material e Métodos	7
Resultados	18
Discussão	20
Conclusões	23
Resumo	24
Referências Bibliográficas	25

INTRODUÇÃO

O teste de soro precipitação em tubos, baseada na reação antígeno anticorpo, tem sido utilizada com frequência para diferenciar carnes das diversas espécies animais (GINSBERG, 1948; KAPLAN & BUCK, 1951; LA ROSA & MORO, 1959; PINTO, 1961; BERKMEN & cols., 1964; KATSUBE & cols., 1968 e KARPAS & cols., 1970).

WARNECKE & SAFFLE (1968) e MENDES & RIBEIRO (1971), para melhor caracterizarem esta reação, utilizaram o teste de imunodifusão em gel, que embora mais demorado que a precipitação em tubos apresenta resultados mais precisos.

Apesar da aplicação do método para diferenciação de carnes, desde 1925 poucas são as referências de literatura, que fazem menção acerca de quantidades mínimas de carne de uma determinada espécie animal, capazes de serem detectadas quando misturadas â de outras espécies. Do mesmo modo, são poucas as pesquisas referentes às dificuldades encontradas quando se procura diferenciar as carnes que tenham sofrido qualquer processo tecnológico de transformação.

O presente trabalho foi conduzido com a finalidade de se determinar

a influência de fatores como a concentração, salga, dessecação e aquecimento sobre a sensibilidade do método de imunodifusão para a diferenciação de carnes.

REVISÃO DA LITERATURA

A primeira citação encontrada sobre o emprego da reação de soro precipitação para o diagnóstico e diferenciação das carnes dos animais domésticos, foi feita por LEACH & WINTON (1920). Os autores se limitam a recomendar a técnica, sem revelar maiores detalhes ou resultados.

FURTH (1925), trabalhando com imunógenos aquecidos, procurou obter antisoro específico através de inoculações em coelhos, de soro sanguíneo. O autor revela, que, amostra de soro sanguíneo, aquecida a 110C, demonstrou quando inoculada em coelhos, produzir um antisoro específico para o diagnóstico de carnes da mesma espécie animal que anteriormente haviam sido submetidas à cocção.

PROOM (1943) preparou soros precipitantes específicos a partir de extrato de carne equina aquecida, através de inoculações em coelhos, por via intramuscular, num total de duas inoculações, com intervalo de uma semana. Segundo o autor, carne de cavalo, aquecida a 70C ou 80C por 30 minutos ou ainda aquecida em estufa a 100C por 150 minutos, poderiam ser detectadas pelo teste de soro precipitação.

GINSBERG (1948) usando inoculações intramusculares e subcutâneas em

coelhos, de extrato muscular aquecido, de diferentes espécies animais, obteve antisoros altamente específicos para a diferenciação de carnes, admitindo ser este o antígeno mais indicado para esta finalidade, inclusive para diferenciar carnes submetidas a cozimento.

Resultados, obtidos por Weinstock (1953), revelaram que amostras de carne fresca da espécie equina, aquecida a 80C por 30 minutos, deram reação de precipitação positiva frente ao soro anti equino, preparado a partir do soro sanguíneo livre de conservadores, inoculados em coelhos. Do mesmo modo, misturas de carnes aquecidas em banho maria a 70C por 30 minutos e posteriormente extraídas com salina, também mostraram reação de precipitação positiva frente ao mesmo antisoro. Carne de equino, misturada com carnes de outras espécies animais, reagiu positivamente frente ao soro do coelho anti equino, numa proporção mínima de 10%.

LA ROSA & MORO (1959) para diferenciar as carnes de alpaca, cabra, boi, cavalo, porco e outras espécies animais, utilizaram para a produção de antisoros, soro sanguíneo dessa espécie, precipitados pelo alumen de potás-sio, inoculando galos com uma dose única de 5 ml, por via intramuscular. Concluíram que as carnes daquelas espécies podem ser diferenciadas pela reação de soro precipitação seguindo o esquema indicado. Os autores só trabalharam com carnes frescas.

OISHI & cols. (1961) relatam que a reação de soro precipitação pode ser aplicada para a diferenciação de carnes aquecidas, embora os autores não mencionem a temperatura máxima que a carne deva ser submetida. Os mesmos autores observaram que a reação de soro precipitação para a diferenciação de carnes provenientes de várias espécies, é mais específica quando o antisoro utilizado foi diluído de 2 a 4 vezes em soro aquecido de coelho à 37C por 30 minutos. A mistura de carne de várias espécies animais, foi testada com soro anti equino possuidor de um título precipitante 1:12.000. A presença de carne de cavalo foi demonstrada até uma quantidade mínima de 25%.

PHILBECK (1967) relata que, pela utilização de cromatografia de gases, pode-se diagnosticar satisfatoriamente misturas de carnes e gorduras de cavalo, boi e porco até uma percentagem mínima de 3%.

KUBOTA (1967) tentou sem êxito, desenvolver um método de precipitação para diagnosticar carnes cozidas de várias espécies animais, obtendo antiseros pela imunização de coelhos com soro sanguíneo. Uma possível desnaturação e insolubilidade das proteínas, provocadas pelo aquecimento, foi aplicada pelo autor como causa de seu insucesso.

THORNTON (1969) afirma que a reação de precipitação é de maior valor para carne crua, afirmando que o cozimento a temperaturas superiores a 77,7°C por 10 minutos, torna impossível a extração das proteínas de carne. Afirma ainda que a defumação e a salga não interferem nas provas de diferenciação.

KATSUBE & IMAIGUMI (1968) afirmam que carne crua de uma espécie animal em mistura com carnes de outras espécies, até uma proporção de 25%, pode ser detectada pela reação de precipitação e que carne de cavalo aquecida a 70°C ou 80°C por 30 minutos ou ainda, aquecida em estufa a 100°C por 150 minutos, pode também ser identificada pelo mesmo processo.

Os autores utilizaram antiseros preparados a partir da imunização de coelhos com soro sanguíneo e extrato de carne, ambos precipitados pelo alumen de potássio, com adjuvante completo de Freund, em inoculações intramusculares, feitas com intervalos semanais.

TUSNED & cols. (1971) utilizaram a reação de precipitação em gel para identificar carnes de galinha, pato e codorna. Os antiseros foram obtidos pela imunização de coelhos com extrato de carne daquelas espécies adicionadas de adjuvante completo de Freund, através de uma única inoculação por via intramuscular. Os resultados alcançados revelaram que carnes destas espécies podem ser detectadas até uma quantidade de 0,5 mg/ml de proteína no extrato de carne.

FUGATE JR. & PENN (1971) utilizaram 12 amostras de carnes de bovino , equino e suino para serem identificadas pelo método de imunodifusão em gel e concluíram que carnes cruas das espécies estudadas, podem ser demonstradas nas seguintes proporções: 10% de carne suína em 90% de carne bovina e 5% de carne equina em 95% de carne bovina. Os autores utilizaram antiseros adquiridos no comércio.

Finalmente, CODURI & RAND (1972) empregaram o método de gel eletroforese para detectar carnes de equino e suino, misturadas à carne de bovino. Os resultados obtidos pelos autores, demonstraram que a carne suína pode ser evidenciada até um limite de 5%, enquanto a de equino até um limite de 20%.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - PRODUÇÃO DE ANTISOROS

No preparo de uma bateria de soro de coelho anti soros de bovinos, equino e suino, foram seguidas recomendações de WARNECKE & SAFFLE (1968).

Os soros sanguíneos das espécies animais estudadas foram obtidos de animais procedentes da Escola de Veterinária da UFMG e de animais abatidos em matadouros próximos de Belo Horizonte.

1.1 - Preparo do material antigênico-soro sanguíneo precipitado pelo alumen de potássio.

Para cada 25 ml de soro sanguíneo das espécies estudadas, foram adicionados 80 ml de água destilada e 90 ml de solução de alumen de potássio a 10%. O pH da mistura foi ajustado para 6,5 utilizando-se uma solução de NaCl 5N. O precipitado foi separado por centrifugação a 5.000 r.p.m., durante 5 minutos, a uma temperatura de 5°C, sendo então lavado por 3 vezes com 200 ml de solução de Merthiolate Lilly 1:10.000 e novamente centrifugado nas mesmas condições anteriores. O volume final foi completado para 100 ml com solução de Merthiolate 1:10.000 e estocados ao abrigo da luz a 20°C, segundo OLIVEIRA LIMA & DIAS DA SILVA (1970).

1.2 - Esquema de imunização.

Foram utilizados 9 coelhos da raça Gigante branco, pesando em média 2,5 quilogramas, em bom estado de saúde, sendo que para cada espécie animal foram utilizados 3 coelhos.

Cada coelho foi inoculado por via subcutânea, com 2 ml do material antigênico correspondente a cada espécie animal, adicionado de igual volume de adjuvante incompleto de Freund, DAWE & cols. (1965), num total de 5 inoculações, com intervalos de 7 dias entre elas. Sete dias após a última inoculação, os animais sofreram sangria total por punção intracardíaca. A pós centrifugação do sangue a 5.000 r.p.m. por 5 minutos, o soro obtido foi concentrado, padronizado e estocado a -20C segundo OLIVEIRA LIMA & DIAS DA SILVA (1970).

1.3 - Titulação dos antisoros.

Para a titulação dos antisoros obtidos, foi utilizado o método de imunodifusão em gel, descrito por MENDES & RIBEIRO (1971).

Os soros foram colocados frente aos antígenos homólogos (soro sanguíneo) afim de se determinar o seu título, e bem assim, frente a antígenos heterólogos, com a finalidade de se observar possíveis reações cruzadas, usando-se como contrôlo, antisoros fornecidos pelo Centro Panamericano de Zoonoses.

2 - PREPARO DE EXTRATOS MUSCULARES

Misturas de carne fresca e resfriada das espécies bovina, equina e suína, foram feitas em proporções decrescentes, afim de se determinar a quantidade mínima de uma carne, possível de ser detectada pelo teste de imunodifusão. Do mesmo modo procurou-se estabelecer possíveis interferências nas provas de identificação, por fatores como: salga, dessecação e aquecimento.

2.1 - Carne fresca.

Fragmentos de carnes frescas das espécies citadas, foram picadas e moidos em moedor elétrico marca ARNO, fazendo-se as misturas necessárias, num total de 27 amostras. Uma parte de cada mistura foi suspensa em solução fisiológica e mantida em geladeira a 4C, durante uma hora, para digestão, (10 g de carne para 20 ml de solução fisiológica). Posteriormente a mistura foi filtrada por 3 vezes consecutivas através de papel de filtro (Carl Schleicher & Schull Nº 589¹ Ø 11 cm). O filtrado resultante foi estocado a -20C para posteriores análises, segundo WARNECKE & SAFFLE (1968).

2.2 - Carne salgada.

Fragmentos de carne das espécies estudadas, foram submetidas à salga -úmida (solução de cloreto de sódio a 25%), por um tempo aproximado de 3 horas e, à salga seca por um tempo aproximado de 72 horas, perfazendo um total de 27 amostras. Usando o mesmo procedimento anteriormente descrito, foram obtidos os filtrados das carnes salgadas.

2.3 - Carne dessecada.

Após a salga, metade das 27 amostras foram colocadas sob a ação de raios solares por um tempo variável de 7 a 14 dias, até que seu teor em umidade fosse julgado satisfatório para uma carne dessecada e para a realização dos testes. Depois de feitas as misturas necessárias e com o mesmo procedimento anterior, foram obtidos os extratos filtrados.

2.4 - Carne aquecida.

20 gramas de carne fresca, resfriada e moída, foram espalhadas uniformemente em placas de Petri, formando uma camada de aproximadamente 0,5 cm de espessura e submetidas à ação do calor em estufa elétrica, marca ELCONAP 20-260C, a temperatura de 50C a 110C, com variação de 10C e a tempo que variou de 30 a 180 minutos. Após isto, foram obtidos extratos filtrados, semelhantemente ao descrito para a carne fresca, num total de 147 amostras de todas as espécies estudadas.

3 - PROVAS DE IDENTIFICAÇÃO

Nesta fase foram seguidas as recomendações de MENDES & RIBEIRO (1971).

Lâminas de vidro medindo 26 x 76 mm foram cobertas com cerca de 4 CC de agar liquefeito (IONAGAR Nº 2 DIFCO), a 1,5% contendo 0,5% de cloreto de sódio, formando uma fina camada gelatinosa. Nesta camada depois de so lidificada, foram feitos furos equidistantes à margem da lâmina, e neles foram colocados os antisoros (soro de coelho anti espécie). Um sulco lon gitudinal foi também feito na camada gelatinosa, paralelamente aos furos. Neles foram colocados, ora os extratos musculares obtidos das misturas de carnes frescas, dessecadas ou salgadas; ora o extrato das carnes submeti das ao aquecimento, segundo MENDES & RIBEIRO (1971), tendo ainda como con trole, antisoros fornecidos pelo Centro Panamericano de Zoonoses.

As lâminas assim preparadas foram colocadas em câmara úmida e a tem peratura ambiente, afim de que a difusão das substâncias se processasse e conseqüentemente a reação. As anotações foram feitas decorridas cerca de 12 horas. No ponto de contacto entre antígenos e anticorpo, caso a reação fosse positiva, havia formação de linhas de precipitação.

Foram repetidas 5 análises para cada amostra.

QUADRO I

Títulos dos antisoros, pelo teste de imunodifusão em gel, empregando-se como antígenos, soro sanguíneo normal das espécies estudadas.

Antisoros	Antígenos		
	Soro sanguíneo bovino	Soro sanguíneo equino	Soro sanguíneo suino
Soro coelho anti bovino	1:3.200	-	-
Soro coelho anti equino	-	1:3.200	-
Soro coelho anti suino	-	-	1:3.200

QUADRO II

Resultados da prova de imunodifusão em 27 amostras de carne fresca, por concentração e por espécie animal.

Nº da amostra	ESPÉCIE	BOVINO		EQUINO		SUINO	
		conc. %	resul- tados	conc. %	resul- tados	conc. %	resul- tados
1		50	+	50	+	0	-
2		75	+	25	+	0	-
3		90	+	10	+	0	-
4		95	+	5	+	0	-
5		98	+	2	+	0	-
6		25	+	75	+	0	-
7		10	+	90	+	0	-
8		5	+	95	+	0	-
9		2	+	98	+	0	-
10		50	+	0	-	50	+
11		75	+	0	-	25	+
12		90	+	0	-	10	+
13		95	+	0	-	5	+
14		98	+	0	-	2	+
15		25	+	0	-	75	+
16		10	+	0	-	90	+
17		5	+	0	-	95	+
18		2	+	0	-	98	+
19		0	-	50	+	50	+
20		0	-	25	+	75	+
21		0	-	10	+	90	+
22		0	-	5	+	95	+
23		0	-	2	+	98	+
24		0	-	75	+	25	+
25		0	-	90	+	10	+
26		0	-	95	+	5	+
27		0	-	98	+	2	+

QUADRO III

Resultados da prova de imunodifusão em 27 amostras de carne salgada, por concentração e por espécie animal

Nº da amostra	ESPÉCIE	BOVINO		EQUINO		SUINO	
		conc. %	resul- tados	conc. %	resul- tados	conc. %	resul- tados
1		50	+	50	+	0	-
2		75	+	25	+	0	-
3		90	+	10	+	0	-
4		95	+	5	+	0	-
5		98	+	2	-	0	-
6		25	+	75	+	0	-
7		10	+	90	+	0	-
8		5	+	95	+	0	-
9		2	-	98	+	0	-
10		50	+	0	-	50	+
11		75	+	0	-	25	+
12		90	+	0	-	10	+
13		95	+	0	-	5	+
14		98	+	0	-	2	-
15		25	+	0	-	75	+
16		10	+	0	-	90	+
17		5	+	0	-	95	+
18		2	-	0	-	98	+
19		0	-	50	+	50	+
20		0	-	25	+	75	+
21		0	-	10	+	90	+
22		0	-	5	+	95	+
23		0	-	2	-	98	+
24		0	-	75	+	25	+
25		0	-	90	+	10	+
26		0	-	95	+	5	+
27		0	-	98	+	2	-

QUADRO IV

Resultados da prova de imunodifusão em 27 amostras de carne dessecada, por concentração e por espécie animal.

Nº da amostra	ESPÉCIE	BOVINO		EQUINO		SUINO	
		conc. %	resultados	conc. %	resultados	conc. %	resultados
1		50	+	50	+	0	-
2		75	+	25	+	0	-
3		90	+	10	+	0	-
4		95	+	5	-	0	-
5		98	+	2	-	0	-
6		25	+	75	+	0	-
7		10	+	90	+	0	-
8		5	-	95	+	0	-
9		2	-	98	+	0	-
10		50	+	0	-	50	+
11		75	+	0	-	25	+
12		90	+	0	-	10	+
13		95	+	0	-	5	-
14		98	+	0	-	2	-
15		25	+	0	-	75	+
16		10	+	0	-	90	+
17		5	-	0	-	95	+
18		2	-	0	-	98	+
19		0	-	50	+	50	+
20		0	-	25	+	75	+
21		0	-	10	+	90	+
22		0	-	5	-	95	+
23		0	-	2	-	98	-
24		0	-	75	+	25	-
25		0	-	90	+	10	-
26		0	-	95	+	5	-
27		0	-	98	+	2	-

QUADRO V

Identificação pelo teste de imunodifusão de 49 amostras de carne fresca de bovino, submetidas à variações de tempo e temperatura.

Temperatura C	tempo (minutos)						
	30	40	50	60	90	120	180
50	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+	-
90	+	+	+	+	+	+	-
100	+	+	+	+	-	-	-
110	+	+	+	-	-	-	-

QUADRO VI

Identificação pelo teste de imunodifusão, de 49 amostras de carne fresca de equino, submetidas à variações de tempo e temperatura.

Temperatura C	tempo (minutos)						
	30	40	50	60	90	120	180
50	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+	-
90	+	+	+	+	+	+	-
100	+	+	+	+	-	-	-
110	+	+	+	-	-	-	-

QUADRO VII

Identificação pelo teste de imunodifusão, de 49 amostras de carne fresca de suíno, submetidas à variações de tempo e temperatura.

Temperatura C	tempo (minutos)						
	30	40	50	60	90	120	180
50	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+
70	+	+	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+	+	-
90	+	+	+	+	+	-	-
100	+	+	+	+	-	-	-
110	+	+	+	-	-	-	-

RESULTADOS

No QUADRO I, encontram-se os títulos dos antisoros utilizados neste trabalho.

Um total de 228 amostras de carne das espécies bovina, equina e suína foram submetidas à identificação e detecção pelo método de imunodifusão em gel, e os resultados encontram-se sumariados nos QUADROS II, III, IV, V, VI e VII.

No QUADRO II, encontram-se os resultados obtidos em 27 amostras de misturas de carnes frescas, observando-se que, as carnes de equino, bovino e suíno, misturadas entre si, 2 a 2 em proporções decrescentes, puderam ser detectadas até uma concentração mínima de 2%.

No QUADRO III, estão os resultados obtidos com as 27 amostras de misturas de carnes salgadas das mesmas espécies e em concentrações variadas, observando-se que todas elas foram detectadas até uma quantidade mínima de 5%.

No QUADRO IV, encontram-se os resultados obtidos em 27 amostras de misturas de carnes dessecadas das mesmas espécies, tendo sido possível uma detecção até uma concentração mínima de 10% quando misturadas entre si.

No QUADRO V, estão os resultados obtidos em 49 amostras de carnes frescas de bovino, submetidas à variações de tempo e temperatura. À temperatura de 80C durante 180 minutos, a reação foi negativa, o mesmo acontecendo à temperatura de 90C por 180 minutos; 100C por 90, 120 e 180 minu

tos e a 110C por 60, 90, 120 e 180 minutos.

No QUADRO VI, estão os resultados obtidos com 49 amostras de carnes frescas de equino, também submetidas às mesmas condições, revelando que, a uma temperatura de 80C durante 180 minutos, a reação foi negativa, o mesmo ocorrendo à temperatura de 90C durante 180 minutos, 100C por 90, 120 e 180 minutos e a 110C por 60, 90, 120 e 180 minutos.

No QUADRO VII, estão os resultados obtidos em 49 amostras de carnes frescas de suíno, quando submetidas à variações de tempo e temperatura.

As reações foram negativas à temperatura de 80C durante 180 minutos; à 90C por 120 e 180 minutos; à 100C por 90, 120 e 180 minutos e a 110C por 60, 90, 120 e 180 minutos.

DISCUSSÃO

O método de diferenciação de carnes utilizado no presente trabalho, foi o de imunodifusão em gel, o mesmo utilizado por WARNECKE & SAFFLE (1959), MENDES & RIBEIRO (1971), TUSNED (1971), e FUGATE JR. & PENN (1971)

Este método tem os mesmos fundamentos que a reação de soro precipitação em tubos, recomendada por LEACH & WINTON (1920) e utilizado por FURTH (1925), PROOM (1943), GINSBERG (1948), KAPLAN & BUCK (1951), WEINSTOCK (1953), LA ROSA & MORO (1959), PINTO (1961), OISHI & cols. (1961), KUBOTA (1967), KATSUBE & cols. (1968), THORNTON (1969) e KARPAS (1970).

A técnica utilizada neste trabalho para a produção de antisoros, foi a recomendada por WARNECKE & SAFFLE (1968), embora vários autores já a tivessem utilizado, variando porém em pequenos detalhes.

Assim é que FURTH (1925) usou soro sanguíneo aquecido, como imunógeno para a produção de antisoros, através de inoculações em coelhos; ao contrário dos trabalhos de PROOM (1943), GINSBERG (1948) e KATSUBE & cols. (1968) que utilizaram como imunógenos, extratos de carnes das espécies estudadas através de inoculações em coelhos.

TUSNED (1971) utilizou o mesmo antígeno para a mesma finalidade, porém acrescentando adjuvante de Freund.

Por outro lado, LA ROSA & MORO (1959) e KATSUBE & cols. (1968), utilizaram também como imunógeno, soro sanguíneo das espécies estudadas, pre

citado pelo alumen do potássio; o mesmo utilizado por WARNECKE & SAFFLE (1968) e MENDES & RIBEIRO (1971).

Outras técnicas foram utilizadas para a diferenciação de carnes, como relatam PHILBECK (1967) e CODURI & RAND (1972), que utilizaram respectivamente, as técnicas de eletroforese em gel e cromatografia de gases.

Quanto aos títulos dos antisoros utilizados neste trabalho, são considerados baixos, se comparados aos apresentados por OISHI & cols. (1961), que trabalhou com soros possuidores de títulos de 1:12.800, enquanto o mais alto título de antisoro conseguido neste trabalho foi de 1:3.200.

Os resultados obtidos por nós quando procuramos identificar percentagens mínimas em misturas de carnes frescas de bovino, equino e suíno, podem ser comparados aos de KATSUBE & cols. (1968), que conseguiram identificar a uma percentagem mínima de 25%, as carnes de equinos e suínos, PHILBECK (1967) conseguiu identificar as carnes de bovino e suíno em percentagens mínimas de 3%.

FUGATE JR. & PENN (1971) conseguiram identificar as carnes de equino e suíno, misturadas à de bovino, numa percentagem mínima de 5% e 10% respectivamente.

CODURI & RAND (1972) conseguiram identificar as carnes de equino e suíno, misturadas à de bovino, numa percentagem mínima de 20% e 5% respectivamente; enquanto os resultados obtidos neste trabalho foi de 2% para as carnes de todas as espécies estudadas.

A variação de resultados obtidos, talvez seja devido a utilização de técnicas diferentes pela maioria dos autores, como já foi descrito anteriormente.

Com relação aos resultados por nós obtidos na identificação de carnes submetidas à salga e à dessecação, eles não podem ser comparados a outros, devido a não utilização destes processos de conservação por outros autores somente discordando em parte da afirmação de THORNTON (1969), que a salga e a dessecação não interferem nas provas de identificação. Carnes

de bovino, equino e suino, submetidas a estes processos e analisados neste trabalho, revelaram serem identificadas somente a uma porcentagem mínima de 5% para as carnes salgadas e 10% para as carnes dessecadas. Pelo que se observa, a salga e a dessecação, interferem de modo indireto nas provas de identificação, talvez pela desidratação que provocam nas carnes.

Os resultados obtidos neste trabalho em carnes submetidas a variações de tempo e temperatura, mostraram que as carnes das espécies estudadas podem ser identificadas mesmo quando submetidas à temperatura de 80C por um tempo de 120 minutos, discordando de PROOM (1943) e KATSUBE & cols (1968), que afirmam que carnes de cavalo, aquecidas à 70 ou 80C por 30 minutos, poderiam ser identificadas.

Discordamos também de THORNTON (1969) que afirma ser impossível identificar carnes que tenham sido submetidas a temperaturas superiores a 77,7C por um tempo de 10 minutos.

Os resultados deste trabalho se comparam aos de WEINSTOCK (1953) onde o autor descreve que carne equina, aquecida a 80C por 30 minutos, deu reação de precipitação positiva, o mesmo ocorrendo com as aquecidas em banho maria à 70C por 30 minutos.

CONCLUSÕES

- 1 - Carnes frescas das espécies bovina, equina e suína, podem ser identificadas pelo teste de imunodifusão em gel, até uma percentagem mínima de 2%, quando misturadas entre si, duas a duas.
- 2 - Carnes salgadas das mesmas espécies também podem ser identificadas pelo mesmo teste, quando misturadas entre si, até uma percentagem mínima de 5%.
- 3 - Carnes dessecadas das mesmas espécies e nas mesmas condições, podem ser identificadas até uma percentagem mínima de 10%.
- 4 - A salga e a dessecação pouco interferem sobre as provas de identificação, interferência esta provocada pela desidratação das carnes e com consequente diluição de antígeno na rehidratação das mesmas para a realização dos testes.
- 5 - A ação de tempo e temperatura variáveis, também interfere nas provas de identificação, baseada na desnaturação proteica e dessecação da carne, provocadas pelo aquecimento. Nenhuma das carnes das espécies estudadas, foram identificadas após terem sido submetidas à temperatura superior à 80C por um tempo superior a 120 minutos.

RESUMO

No presente trabalho, o autor utilizou o método de imunodifusão em gel, procurando estabelecer os limites mínimos em percentagens, de carnes das espécies bovina, equina e suína, possíveis de serem detectadas, em mistura com outras carnes.

Através do mesmo método, procurou estabelecer possíveis interferências de fatores como a salga, dessecação e aquecimento, nas provas de identificação.

Os antisoros utilizados pelo autor, foram obtidos pela imunização de coelhos, por via subcutânea com soro sanguíneo das espécies estudadas precipitado pelo alumen de potássio.

Os resultados alcançados, revelam que, as carnes frescas, salgadas e as dessecadas, de todas as espécies estudadas, podem ser identificadas até um limite mínimo de 2%, 5% e 10% respectivamente.

Por outro lado, as carnes das mesmas espécies, submetidas a variações de tempo e temperatura, não puderam ser identificadas após terem sido submetidas a temperaturas superiores a 80°C por um tempo superior a 120 minutos.

O autor concluiu afirmando que, tanto a salga, dessecação ou aquecimento, podem interferir nas provas de identificação de carne.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERKMEN, L. & DERMIER, M.A., 1964. Differentiation of beef and buffalo meat by precipitation test. Turk. Vet. Hekin. Dern. Derg., 24:136-146.
- CODURI, R.J. & RAND JR., A.C., 1972. Vertical plate gel electrophoresis for the differentiation of meats species. J. Assoc. Off. Chem. Anal., 55(3): 461-463.
- DAWE, D.L., SEGRE, D. & MEYERS, W.L., 1965. Passive transfer of the action of Freund's adjuvant by serum from rabbits injected with the adjuvant. Science, 148:12345-1347.
- FURTH, J., 1925. Antigenic character of heated protein. J. Immunol., 10:777-789.
- FUGATE JR., H.G. & PENN, S.R., 1971. Immunodiffusion technique for the identification of animal species. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 54(5):1152-1156.
- GINSBERG, A., 1948. The differentiation of meats by precipitation test. Vet. Rec., 60-683-685.
- KARPAS, A.B., MEYERS, W.L. & SEGRE, D., 1970. Serological identification of species of origin sausages meats. J. Food Sci., 36:150-155.

- KATSUBE, Y. & YMAIGUMI, K., 1968. Serological identification of animal species. Jap. J. Vet. Sci., 30:219-232.
- KARPLAN, E. & BUCK JR., T.C., 1951. Detection of horse meat by the biological precipitin test. J. Milk Food Technol., 14:66-67.
- KUBOTA, Y., 1967. In KATSUBE & YMAIGUMI, 1968.
- LA ROSA, V. & MORO, S.M., 1959. La prueba de precipitación en la diferenciación de las carnes de los mamíferos. Rev. Fac. Med. Vet. Lima, 13-14:158-168.
- LEACH, E.A. & WINTON, L.A., 1920. Food inspection and analysis. 4^a Ed. Wiley and Sons, New York, 273 pages.
- MENDES, B. & RIBEIRO, R.M.P., 1971. Imunodifusão como método de diferenciação de carnes. Arg. Esc. Vet., 23:263-267.
- OISHI, J., ICHIKAWA, C. & SHIMADA, K., 1961. Differentiation of meat by precipitation reaction. II. Differentiation of horse meats with hemoglobin immune serum. Jap. J. Vet. Med. Assoc., 14:283-287.
- OLIVEIRA LIMA, A. & DIAS DA SILVA, W., 1970. Imunologia, imunopatologia e alergia. 1^a Ed.. Editora Guanabara Koogan. S/A., Rio de Janeiro, 673 pag.
- PINTO, F.C., 1961. Serological identification of ox, buffalo, goat and deer flesh. Brit. Vet., 6(117):540-544.
- PHILBECK, R.H., 1967. Meats and meat products. J. Assoc. Anal. Chem., 50(4) 942.
- PROOM, H., 1943. The preparation of Precipitating sera for the identification of animal species. J. Pathol. Bacterid., 7:103-110.

- THORNTON, H., 1969. Compêndio de Inspeção de carnes. 5ª Ed., Editorial Fremag Ltda., São Paulo, 665 pags.
- TUSNED, A., OZAWA, S., YANO, S. & MOGI, K., 1971. Immunological discrimination of poultry meats. Jap. Poult. Sci., 8(3):150-155
- WARNECKE, A.O. & SAFFLE, R.L., 1968. Serological identification and proteins extracts for antibody production. J. Food Sci., 33:131-135.
- WEINSTOCK, A., 1953. A survey on the detection of horsemeat by the serological precipitin test. J. Milk Food Technol., 14:66-67.

BIBLIOTECA - ESCOLA DE VETERINARIA UFPA
Código 1210130
M. Recol. _____
