Pocilgas de espera como fonte de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva de suínos destinados ao abate

Holding Pens as Sources of Contamination of Coagulase-Positive *Staphylococcus* to Pigs Waiting for Slaughter

Lauren Machado Moreira, Alana Borges Tavares, Celina Nunes Ebersol, Thaís Gonçalves Gonçalves, Helenice Gonzalez de Lima, Natacha Deboni Cereser & Cláudio Dias Timm

ABSTRACT

Background: Coagulase-Positive *Staphylococcus* (SCP) are important pathogens related to foodborne illness associated with pork consumption. The isolation of SCP from pork products has been reported in several countries, including Brazil. Therefore, the identification of the sources of contamination of the pork products is fundamental to ensure the food safety. Although the animals remain in the holding pens during the pre-slaughter, these facilities have not been studied as a possible source of contamination for pigs. The aim of this study was to determine the importance of holding pens as sources of contamination of SCP to pigs and to identify other sources in the slaughter flowchart.

Materials, Methods & Results: It was followed four pigs from ten different lots sent to slaughter. Prior to slaughter, samples were collected from the floors of the holding pens in the slaughterhouse. During slaughter, samples from seven different points were collected: 1) stool from the rectum immediately after stunning; 2) external surface of the carcass after dehairing; 3) internal surface of the carcass after evisceration; 4) external surface of the half-carcass prior to entry into the cold chamber; 5) tongue surface; 6) jowls; and 7) mesenteric lymph nodes. The strains were obtained through microbiological analysis. To compare the similarity between the strains, rep-PCR was performed. Of the ten samples collected in the holding pens, four (40%) were contaminated with SCP. At slaughter, 280 samples were collected and 56 (20%) SCP isolates were obtained. The lymph nodes were the point of greatest isolation (19.6%), followed by the surface of the carcass at the entrance to the cold chamber (17.8%), the rectum after desensitization (16.1%), carcass surface after opening of the abdominal cavity (16.1%), jowls (12.5%), carcass surface after dehairing (8.9%) and tongue surface (8.9%). In the rep-PCR analysis, isolates with indistinguishable band pattern were observed involving both those obtained on the holding pens and at different points in the slaughtering flowchart.

Discussion: The holding pens contamination may have occurred due to hygiene failure after leaving lots with pigs harboring SCP. Considering that the recommendation, in view of animal welfare, is to use anti-slip material in the pens floor, it may be difficult to clean this area due to roughness in the concrete, which would allow the microorganisms remain in the place. Some studies have reported the presence of *S. aureus* in pigs from finishing farms, demonstrating that these animals may be harboring this bacterium in the gastrointestinal tract when sent to slaughter, excreting it in the pens during waiting in the slaughterhouse. Some strains isolated from tongue, rectum and lymph nodes were considered indistinguishable by rep-PCR from the strains isolated from the holding dump, what demonstrate that the holding pens act as an important source of SCP contamination for the pigs that will be slaughtered. The results show that the period in which the animals remain in the holding pens during pre-slaughter is sufficient for the pigs to be contaminated with SCP, the microorganisms to settle in the mesenteric lymph nodes and the animals excrete these bacteria in the feces. The persistence of the contamination to the end products is a possibility, since strains isolated from stool samples were also isolated from other points in the slaughter flowchart, including the carcass. It can be concluded that the holding pens are important sources of SCP contamination for the swine, which once contaminated, can disseminate the microorganism in the slaughter flowchart through the feces, mesenteric lymph nodes and oral cavity. This is the first study in Brazil that shows that the holding pens are important sources of SCP contamination for pigs sent to slaughter.

Keywords: cross contamination; public health, slaughterhouse, swine breeding.

Descritores: contaminação cruzada; saúde pública, abatedouro-frigorífico, suinocultura.

<http://dx.doi.org/10.22456/1679-9216.84208>

Received: 11 March 2018

Accepted: 10 July 2018

Published: 23 August 2018

Inspecção de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Pelotas, RS, Brazil. CORRESPONDENCE: C.D. Timm [timm@ufpel.tche.br - Tel.: +55 (53) 32757216]. Inspecção de Produtos de Origem Animal, UFPeL. Campus Capão do Leão, prédio 34. CEP 96160-000 Capão do Leão, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ser divididas de acordo com a sua capacidade de produzir a enzima coagulase. Aquelas consideradas *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) destacam-se por estarem comumente associadas a intoxicações de origem alimentar [6]. A disseminação destas bactérias nos produtos cárneos pode ocorrer durante o processo de abate, através da contaminação da carcaça e da superfície de contato de equipamentos e utensílios contaminados por animais ou humanos portadores [16].

Em decorrência do fluxograma de abate de suínos oferecer inúmeras oportunidades de contaminação da carcaça, uma vez que há manipulação em diversas etapas do processo, o isolamento de SCP de produtos suínos tem sido reportado em diversos países [1,17,21], inclusive no Brasil [11,13]. Portanto, a identificação das fontes de contaminação dos produtos suínos é fundamental para o controle da sua inocuidade, de forma a não oferecerem perigo à saúde pública.

Embora os animais permaneçam nas pocilgas de espera durante o período de jejum e dieta hídrica do pré-abate, estas instalações não têm sido estudadas como possível fonte de contaminação para os suínos. Essa hipótese, embora plausível, ainda carecia de comprovação.

Considerando que os suínos podem albergar SCP no trato gastrointestinal e a importância dessas bactérias para a saúde pública, o objetivo deste trabalho foi determinar a importância das pocilgas de espera como fontes de contaminação dos suínos e identificar outras fontes no fluxograma de abate.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das amostras

Suínos de 10 lotes encaminhados para um abatedouro-frigorífico legalmente estabelecido, cadastrado e inspecionado pela Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação do Rio Grande do Sul foram acompanhados durante o abate. No dia anterior à chegada dos animais ao abatedouro, foram coletadas amostras do piso das pocilgas de espera, onde se caminhava em diferentes direções com o uso de propés descartáveis, nos quais foram friccionadas zaragatoas estéreis para coleta de material.

No momento do abate, foram acompanhados quatro animais de cada lote, selecionados aleatoriamente, os quais foram marcados e diferenciados dos demais e entre si. Destes animais, foram coletadas

amostras de sete diferentes pontos do fluxograma: 1) fezes diretamente do reto, após a insensibilização, através da introdução de zaragatoa estéril; 2) superfície externa da carcaça após a passagem pela depiladeira, através de fricção de zaragatoa estéril em uma área de 100 cm² delimitada por gabarito de aço inoxidável estéril, a 15 cm da linha do dorso, a partir da quinta costela; 3) superfície interna da carcaça após a abertura da cavidade abdominal, através de zaragatoa estéril em uma área de 100 cm² delimitada por gabarito de aço inoxidável estéril, a 10 cm das articulações das costelas com as vértebras, a partir da quinta costela; 4) superfície externa da meia-carcaça antes da entrada na câmara fria, através de zaragatoa estéril em uma área de 100 cm² delimitada por gabarito de aço inoxidável estéril, a 15 cm da linha do dorso, a partir da quinta costela; 5) superfície da língua, após a desarticulação da cabeça, através de fricção de zaragatoa estéril; 6) superfície interna da papada, através de fricção de zaragatoa estéril; 7) superfície interna dos linfonodos mesentéricos, retirados íntegros e asépticamente incisados longitudinalmente com faca estéril, através de fricção de zaragatoas estéreis em três pontos diferentes da superfície de corte. Imediatamente após a coleta, as amostras foram encaminhadas para análise em meio de transporte Cary Blair¹ acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo.

Obtenção dos isolados

Para a pesquisa de SCP, as zaragatoas contendo as amostras foram semeadas por esgotamento em Ágar Baird-Parker² e incubadas a 37°C por 48 h. Após o período de incubação, três colônias típicas e três colônias atípicas foram semeadas em Infusão de Cérebro e Coração (BHI)¹ e incubadas a 37°C por 24 h para posterior prova da coagulase, que consistiu na adição de 0,3 mL da cultura a 0,3 mL de plasma de coelho, incubados por seis horas a 37°C. Os isolados capazes de coagular o plasma de coelho foram considerados positivos [2].

Extração do DNA

O DNA dos isolados suspeitos de SCP foi extraído conforme [20]. O *pellet* obtido por centrifugação de 1 mL de cultura em BHI foi ressuspensionado em 100 µL de tampão STES [Tris-HCl 0,2 M, NaCl 0,5 M, SDS 0,1% (m/v), EDTA 0,01 M, pH 7,6]. Após, foram adicionados 50 µL de pérolas de vidro e 100 µL de fenol/clorofórmio. Após homogeneização por 1 min,

a mistura foi centrifugada a 13.000 g por 5 min. O sobrenadante foi coletado e precipitado em 2 volumes de etanol absoluto e 0,1 volume de NaCl 5 M a -70 °C por 30 min. Uma nova centrifugação foi realizada a 13.000 g por 20 min, e o sobrenadante descartado. Então, o *pellet* foi lavado com etanol a 70%. Por fim, a eluição foi feita em 40 µL de tampão de eluição (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,4). O DNA extraído foi estocado a -70°C.

Perfis moleculares

Para comparação dos perfis moleculares de SCP foi realizada rep-PCR, utilizando o *primer* (GTG)₅ [22]. As condições da rep-PCR foram as seguintes: 2,5 µL de DNA, 2 µL do *primer* (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3'), 12,5 µL de Master Mix³ e 8 µL de água para completar o volume da reação. Para a amplificação foram realizados um ciclo de 94°C por 5 min, 30 ciclos subsequentes de 95°C por 30 s, 45°C por 1 min e 60°C por 5 min, e finalmente um ciclo de 60°C por 16 min. Para a visualização dos padrões de banda das diferentes regiões amplificadas na rep-PCR, foi realizada eletroforese em gel de agarose 2%.

RESULTADOS

Das dez amostras coletadas nas pocilgas de espera, quatro (40%) estavam contaminadas com SCP. Durante o abate, 280 amostras foram coletadas e foram

obtidos 56 (20%) isolados de SCP. Os linfonodos foram o ponto de maior isolamento (19,6%), seguidos da superfície da carcaça na entrada na câmara fria (17,8%), do reto após a insensibilização (16,1%), superfície da carcaça após a abertura da cavidade abdominal (16,1%), papada (12,5%), superfície da carcaça após a depiladeira (8,9%) e superfície da língua (8,9%) (Tabela 1). Na análise pela rep-PCR, observaram-se isolados com padrão de bandas indistinguível envolvendo tanto aqueles obtidos na pocilga de espera quanto em diferentes pontos do fluxograma, conforme mostrado na Tabela 1. Embora haja limitações na técnica de rep-PCR, assim como em qualquer teste baseado em padrões de bandas, os resultados obtidos com este tipo de método têm sido considerados válidos para estudos de comparação de cepas, sem que seja obrigatoriamente necessário o sequenciamento do DNA dos isolados.

DISCUSSÃO

A contaminação das pocilgas de espera por SCP pode ter ocorrido devido a falhas na higienização após a saída de lotes com suínos que albergavam SCP. Considerando que a recomendação, em vista do bem-estar animal, é que o piso das pocilgas seja de material antiderrapante [10], pode haver dificuldade na higienização desta área devido a reentrâncias presentes no concreto, o que permitiria a permanência dos micro-organismos no local [3]. Outro fator importante a se considerar é a

Tabela 1. Presença de *Staphylococcus* coagulase positiva no fluxograma de abate de suínos.

Lote	Pocilga de espera	Reto*	PD	PE	EC	Língua	Papada	Linfonodos
1	+ ^a	- - - -	- - + -	- - + -	- - + -	+ ^a - - -	- + - -	- - - -
2	+ ^b	+ ^b - - +	- - - +	+ + + +	+ + - + ^b	- - + -	- + - +	+ + + +
3	+ ^c	+ ^c - + ^c + ^c	+ ^c - - -	- - + ^c +	+ - - +	- - + +	- - - -	- - - -
4	-	- - - -	- - - -	+ - - -	- - - +	- - - -	- - - -	+ - - -
5	-	+ + - -	+ - - -	- - - + ^f	- + - +	- - + -	+ - - +	+ + + + ^f
6	+ ^d	- + - +	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	+ ^d - - -
7	-	- - - -	+ - - -	- - - -	- + ^g - -	- - - -	- + ^g + -	+ ^g - - -
8	-	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
9	-	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
10	-	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -

*Nas colunas onde aparecem quatro símbolos (+ ou -), cada um corresponde a um suíno. A ordem dos animais é a mesma em toda a linha. PD = pós-depiladeira; PE = pós-evisceração; EC = entrada na câmara fria. (-) Ausência de *Staphylococcus* coagulase positiva; (+) presença de *Staphylococcus* coagulase positiva (+). Letras iguais ao lado dos símbolos significam que as cepas foram indistinguíveis na rep-PCR.

capacidade de algumas cepas de SCP produzirem biofilmes, o que permitiria a persistência e resistência das mesmas à ação dos sanitizantes [4]. Alguns estudos têm relatado a presença de *S. aureus* em suínos de granjas de terminação, demonstrando que estes animais podem estar albergando esta bactéria no trato gastrointestinal quando enviados ao abate [7,12], excretando-a nas pocilgas durante a espera no abatedouro.

Através da rep-PCR, observou-se que cepas isoladas de língua, reto e linfonodos foram consideradas indistinguíveis de cepas isoladas na pocilga de espera. Foi possível demonstrar que as pocilgas de espera atuam como importante fonte de contaminação de SCP para os suínos que serão abatidos. Os resultados mostram que o período de jejum e dieta hídrica em que os animais permanecem nas pocilgas de espera durante o pré-abate, o qual variou de 8 a 12 h, é suficiente para que os suínos se contaminem com SCP, os micro-organismos se instalem nos linfonodos mesentéricos e os animais passem a excretar estas bactérias nas fezes. No nosso estudo, estas cepas não foram identificadas em outros pontos de coleta de amostras do fluxograma de abate. Entretanto, a persistência da contaminação até os produtos finais é uma possibilidade, uma vez que cepas isoladas de amostras de fezes foram isoladas também de outros pontos do fluxograma, inclusive da carcaça, como discutido a seguir.

Ao serem analisados os isolados das carcaças pela rep-PCR, verificou-se que, no lote 2, o suíno 4 apresentou na superfície da carcaça antes da entrada na câmara fria uma cepa indistinguível do isolado obtido a partir do reto do animal 1, indicando que houve contaminação cruzada entre os animais e que as medidas adotadas durante o fluxograma que visam à diminuição ou eliminação de bactérias foram falhas, uma vez que o suíno chegou ao final da linha de abate contaminado. Da mesma forma, ao comparar os padrões de banda dos isolados obtidos do lote 7, foi possível identificar as cepas dos linfonodos mesentéricos do animal 1 e da papada e carcaça antes da entrada na câmara fria do animal 2 como indistinguíveis entre si. Estes achados também demonstram que houve contaminação cruzada, possivelmente através de utensílios ou equipamentos mal higienizados durante as operações entre um animal e outro.

No lote 3, três animais apresentaram cepas indistinguíveis entre si. O animal 1 apresentou um isolado na superfície da carcaça após a depiladeira, o animal 3 na superfície da carcaça após a evisceração

e o animal 4 no reto após a insensibilização. Estes resultados são indicativos de que ao excretar SCP nas pocilgas de espera, o próprio animal 4 tenha sido responsável pela contaminação dos animais 1 e 3 e que os procedimentos de manejo higiênico-sanitário do frigorífico foram inadequados, permitindo a persistência da bactéria na linha de abate.

Quanto ao lote 5, a cepa isolada nos linfonodos mesentéricos do animal 4 era indistinguível do isolado obtido na carcaça após a evisceração deste mesmo suíno, sugerindo que o procedimento de evisceração possa não ter sido realizado de forma correta, podendo ter ocorrido o rompimento dos linfonodos que acabaram por contaminar a superfície interna da carcaça. Outro fato a se considerar é o risco de haver a contaminação de outras partes da carcaça no momento da incisão dos linfonodos para inspeção, através de utensílios de corte mal higienizados [15].

Seis suínos que estavam excretando SCP no momento do abate albergavam cepas distintas daquelas isoladas das pocilgas de espera antes da entrada dos lotes nestas instalações ou passaram pelas pocilgas quando destas não foram obtidos isolados de SCP, indicando que estes animais já estavam contaminados. A presença destas bactérias no reto dos animais demonstra a possibilidade do próprio suíno contaminado ser fonte de contaminação para os manipuladores, os equipamentos e os utensílios utilizados durante as operações, podendo resultar na contaminação cruzada de outras carcaças [14].

Na etapa após a depiladeira, foram obtidos cinco isolados (8,9%). A etapa de escaldagem, quando realizada adequadamente, além de facilitar a retirada dos pelos, pode contribuir para a diminuição da carga microbiana presente na pele. No entanto, a etapa subsequente de depilação é um ponto crítico para a contaminação da carcaça com bactérias provenientes da boca, narinas e trato gastrointestinal de suínos contaminados [8]. No nosso estudo, quatro das cepas isoladas nesta etapa apresentaram perfil de bandas distintos de qualquer outro isolado obtido, indicando que a contaminação teve origem dentro da planta do frigorífico.

Na etapa após a abertura da cavidade abdominal, nove isolados (16,1%) foram identificados, dos quais sete tiveram seus padrões de bandas diferentes dos demais, indicando que houve contaminação cruzada. Pode haver uma maior ocorrência de SCP em etapas posteriores ao chamuscamento, como a evisceração,

devido à intensa manipulação das carcaças por colaboradores que podem ser portadores assintomáticos deste patógeno [11]. Outra possibilidade de contaminação é através do uso de facas e ganchos mal higienizados durante a operação de evisceração entre um animal portador e outro. No frigorífico acompanhado, a oclusão do reto é realizada apenas com o uso de lacre de nylon, o que pode ter contribuído para a contaminação do manipulador ou de utensílios utilizados no momento da evisceração, considerando a possibilidade de ter havido derramamento de material fecal no momento da colocação do lacre. Já foi demonstrado que a utilização de saco plástico na oclusão do reto é a melhor forma de evitar contaminação durante a evisceração [9].

Foram obtidos cinco isolados (8,9%) da língua e sete (12,5%) da papada. Estes resultados revestem-se de importância, pois estes cortes são utilizados como matéria-prima na elaboração de embutidos e outros subprodutos, os quais têm sido objeto de isolamento de SCP por outros autores [18,19], bem como têm sido implicados em casos de DTA no Rio Grande do Sul [23].

Os linfonodos atuam como barreira primária às infecções, podendo os suínos ser portadores assintomáticos de SCP [5] quando enviados ao abate, chegando ao abatedouro já contaminados. No entanto, a presença desta bactéria em tecidos linfóides de suínos tem sido pouco estudada. Em nosso estudo, os linfonodos foram o ponto com maior percentual de isolados, sendo 11 (18,96%) identificados como SCP, dos quais sete foram considerados diferentes das demais cepas isoladas.

Antes da entrada da carcaça na câmara fria, foram obtidos dez (17,85%) isolados, dos quais sete foram diferentes das cepas isoladas nos outros pontos, indicando que possivelmente a contaminação destas carcaças se deu após o uso de utensílios contaminados

ou após a manipulação das carcaças por colaboradores portadores. A presença de SCP neste ponto é um fato importante a ser considerado, pois esta é a última etapa do abate onde medidas de controle podem ser adotadas antes da destinação do produto ao mercado. Estes resultados demonstram que as boas práticas adotadas pelo estabelecimento não foram suficientes para eliminar o micro-organismo ao longo do fluxograma de abate.

Embora o perigo para o consumidor exista quando as contagens de SCP ultrapassem determinados limites quantitativos, a presença de SCP em diferentes partes do suíno e em vários pontos do fluxograma de abate constitui um risco de que os microrganismos alcancem populações inaceitáveis no alimento.

CONCLUSÕES

As pocilgas de espera em abatedouros-frigoríficos são importantes fontes de contaminação de SCP em suínos enviados ao abate. Os próprios animais que chegam ao abatedouro já portadores de SCP também constituem potenciais fontes de contaminação através das fezes, dos linfonodos mesentéricos e da cavidade oral.

Os linfonodos foram o ponto de maior isolamento de SCP nos suínos, seguido da entrada na câmara fria, que acaba sendo um ponto crítico, pois esta é a última etapa do fluxograma antes do produto ser destinado ao consumidor.

MANUFACTURERS

¹Himedia Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai, India.

²Acumedia Manufacturers Inc. Lansing, MI, USA.

³Sigma-Aldrich. St Louis, MO, USA.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of paper.

REFERENCES

- 1 Beneke B., Klees S., Stührenberg B. Fetsch A., Kraushaar B. & Tenhagen B.A. 2011. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a fresh meat pork production chain. *Journal of Food Protection*. 74(1): 126-129.
- 2 Brasil. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p. 14-51.
- 3 De Busser E.V., Maes D., Houf K., Dewulf J., Imberechts H., Bertrand S. & De Zutter L. 2011. Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology*. 145(1): 279-286.
- 4 Gilbert P., McBain A.J. & Rickard A.H. 2003. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 51(4): 245-248.
- 5 Guerra Filho J.B.P., Veiga S.J., Possebon F.S., Sudano M.J., Galvão J.A., Yamatogi R.S. & Pinto J.P.A.N. 2014. Prevalência e sorotipagem de *Salmonella* em linfonodos e fezes de suínos. *Blucher Food Science Proceedings*. 1(1): 337-338.

- 6 Jay J.M. 2005. *Microbiologia de Alimentos*. 6th edn. Porto Alegre: Artmed, 712p.
- 7 Khanna T., Friendship R., Dewey C. & Weese J.S. 2008. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Veterinary Microbiology*. 128(3): 298-303.
- 8 Lassok B. & Tenhagen B.A. 2013. From pig to pork: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the pork production chain. *Journal of Food Protection*. 76(6): 1095-1108.
- 9 Laukkanen R., Ranta J., Dong X., Hakkinen M., Martínez P.O., Lundén J. & Korkeala H. 2010. Reduction of enteropathogenic *Yersinia* in the pig slaughterhouse by using bagging of the rectum. *Journal of Food Protection*. 73(12): 2161-2168.
- 10 Ludtke C.B., Ciocca J.R.P., Dandin T., Barbalho P.C., Vilela J.A. & Costa O.A.D. 2010. *Abate humanitário de suínos*. Rio de Janeiro: WSPA, 132p.
- 11 Lima E.D.S., Pinto P.S.A., Santos J.L.D., Vanetti M.C.D., Bevilacqua P.D., Almdeida L.P., Pinto M.S. & Dias F.S. 2004. Isolamento de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* no processo do abate suíno como subsídio ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle-APPCC1. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 24(4): 185-190.
- 12 Linhares L.L., Sreevatsan S., Munoz-Zanzi C.A., Torremorell M. & Davies P.R. 2015. The effect of anatomic site and age on detection of *Staphylococcus aureus* in pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 27(1): 55-60.
- 13 Masson G.C.I.H., Ferreira G.S., Oliveira L.F. & Carvalho S. 2012. Perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de granjas e frigoríficos de suínos. *Archives of Veterinary Science*. 17(1): 1-14.
- 14 Molla B., Byrne M., Abley M., Mathews J., Jackson C.R., Fedorka-Cray P. & Gebreyes W.A. 2012. Epidemiology and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of porcine origin. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(11): 3687-3693.
- 15 Moo D., O'Boyle D., Mathers W. & Frost A.J. 1980. The isolation of *Salmonella* from jejunal and caecal lymph nodes of slaughtered animals. *Australian Veterinary Journal*. 56(4): 181-183.
- 16 Nitzsche S., Zweifel C. & Stephan R. 2007. Phenotypic and genotypic traits of *Staphylococcus aureus* strains isolated from pig carcasses. *Veterinary Microbiology*. 120(3) 292-299.
- 17 Normanno G., Dambrosio A., Lorusso V., Samoilis G., Di Taranto P. & Parisi A. 2015. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in slaughtered pigs and abattoir workers in Italy. *Food Microbiology*. 51: 51-56.
- 18 O'Brien A.M., Hanson B.M., Farina S.A., Wu J.Y., Simmering J.E., Wardyn S.E. & Smith T.C. 2012. MRSA in conventional and alternative retail pork products. *PLoS One*. 7(1): e30092.
- 19 Perlin G.O., Pereira L.F., Ferreira B.P.M. & Martins L.A. 2015. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. em embutidos cárneos registrados em serviço de inspeção municipal – sim em 2012 de três municípios do estado do Paraná. *Acta Veterinaria Brasilica*. 9(1): 43-49.
- 20 Sambrook J. & Russel D.W. 2001. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 3rd edn. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 999p.
- 21 Tanih N.F., Sekwadi E., Ndip R.N. & Bessong P.O. 2015. Detection of pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from cattle and pigs slaughtered in abattoirs in Vhembe District, South Africa. *The Scientific World Journal*. 2015: 195972.
- 22 Versalovic J., Schneider M., De Bruijn F.J. & Lupski J.R. 1994. Genomic fingerprinting of bacteria with repetitive sequence based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*. 5: 25-40.
- 23 Welker C.A.D., Both J.M.C., Longaray S.M., Haas S., Soeiro M.L.T. & Ramos R.C. 2010. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*. 8(1): 44-48.