



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DO ABATE DE SUÍNOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS
LOCALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

MADALENA MARIA SALDANHA COELHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA – DF
SETEMBRO/2022**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DO ABATE DE SUÍNOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS
LOCALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

MADALENA MARIA SALDANHA COELHO

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a ÂNGELA PATRÍCIA SANTANA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA/DF
SETEMBRO/ 2022**

MADALENA MARIA SALDANHA COELHO

**CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DO ABATE DE SUÍNOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS
LOCALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em saúde animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em saúde animal.

APROVADA POR:

**ÂNGELA PATRÍCIA SANTANA, Prof.^a Dr.^a (Universidade de Brasília - UnB)
(ORIENTADOR)**

**CRISTIANO SALES PRADO, Prof. Dr. (Universidade Federal de Goiás - UFG)
(EXAMINADOR EXTERNO)**

SIMONE PERECMANIS, Prof.^a Dra.^a. (Universidade de Brasília – UnB)

BRASÍLIA/DF, 12 DE SETEMBRO DE 2022.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

COELHO, M.M.S. **Caracterização microbiológica das etapas do processamento tecnológico do abate de suínos de abatedouros frigoríficos localizados no Distrito Federal.** Brasília, Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 100p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pela autora à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. A autora reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito da autora. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

CC672c Coelho, Madalena Maria Saldanha
CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO
TECNOLÓGICO DO ABATE DE SUÍNOS DE ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS
LOCALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL / Madalena Maria Saldanha
Coelho; orientador Ângela Patrícia Santana. -- Brasília, 2022.
102 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) --
Universidade de Brasília, 2022.

1. Escherichia coli. 2. Salmonella spp.. 3. Listeria
monocytogenes. 4. Multirresistência antimicrobiana. 5.
Biofilmes. I. Santana, Ângela Patrícia, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Prof.^a. Ângela Patrícia, minha orientadora, por ter aceitado me orientar e ser sempre gentil e compreensiva, e por me apoiar em diversos momentos.

Agradeço a meus pais e família amada por sempre apoiarem minhas escolhas e serem compreensivos nos momentos de ausência para tocar o projeto.

Agradeço a meu marido, Carlos, pelo companheirismo, amor, por aceitar tantas ausências e ter proporcionado momentos de descontração sempre que podia.

A meus superiores na DIPOVA, Mônica e Marco Antonio, por terem deixado o serviço mais leve sempre que precisei, também aos colegas de trabalho pelo apoio e palavras gentis para me incentivar.

Aos técnicos do LAMAL e aos colegas de pós-graduação que ajudaram muito e me ensinaram durante o trajeto desta pesquisa.

Aos membros dos outros laboratórios da FAV, que também me ensinaram e me ajudaram em diversos momentos durante o curso.

À CAPES e ao Programa de Pós-Graduação da FAV, que proporcionaram o apoio financeiro a esta pesquisa.

E a Deus, por me guiar por caminhos, às vezes difíceis, que me permitiram crescer como pessoa e com conhecimento.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Lista de <i>primers</i> utilizados para detecção de genes de virulência nos isolados de <i>Escherichia coli</i> | 27 |
| Tabela 2. Resultados das contagens de <i>Enterobacteriaceae</i> , Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm ² , nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal..... | 31 |
| Tabela 3. Identificação dos isolados de <i>Escherichia coli</i> por etapa do processamento tecnológico do abate e local na carcaça, nos abatedouros frigoríficos A na 1 ^a coleta e B na 2 ^a coleta..... | 56 |
| Tabela 4. Antibiograma dos isolados de <i>Escherichia coli</i> dos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal, pelo método de disco-difusão, interpretados de acordo com os parâmetros do CLSI (2021), como resistentes (R), intermediários (I) ou sensíveis (S)..... | 57 |
| Tabela 5 - Antibiograma, detecção por PCR dos genes de virulência <i>stx1</i> , <i>stx2</i> e <i>eae</i> nos isolados de <i>Escherichia coli</i> oriundos de carcaças de suínos dos abatedouros frigoríficos A e B, localizados no Distrito Federal..... | 65 |
| Tabela 6 - Resistência antimicrobiana e capacidade de formação de biofilme para <i>Escherichia coli</i> contendo os genes de virulência <i>stx1</i> e <i>stx2</i> , em diferentes temperaturas, oriundas de carcaça suína dos abatedouros frigoríficos A e B..... | 72 |
| Tabela 7 - Resultados da formação de biofilme dos isolados de <i>Salmonella</i> spp. e de <i>Listeria monocytogenes</i> das carcaças de suínos do abatedouro frigorífico B, de acordo com Stepanović <i>et al.</i> (2000)..... | 74 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça | 37 |
| Figura 2. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/ cm ² | 38 |
| Figura 3. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça. | 38 |
| Figura 4. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm ² | 39 |
| Figura 5. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça. | 39 |
| Figura 6. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm ² | 40 |
| Figura 7. Média geral da contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> em log UFC/ cm ² nas carcaças de suínos dos abatedouros frigoríficos A (1ª coleta) e B (1ª e 2ª coletas) ao longo das etapas do processo tecnológico de abate. | 43 |
| Figura 8. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça. | 44 |
| Figura 9. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm ² | 44 |
| Figura 10. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça. | 45 |

| | |
|---|----|
| Figura 11. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça, em log UFC/cm ² | 45 |
| Figura 12. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça. | 46 |
| Figura 13. Contagem de <i>Escherichia coli</i> na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça, em log UFC/ cm ² | 46 |
| Figura 14. Média geral da contagem de <i>Escherichia coli</i> em log UFC/ cm ² nas carcaças de suínos dos abatedouros frigorífico A (1ª coleta) e B (1ª e 2ª coleta) ao longo das etapas do processo tecnológico do abate. | 47 |
| Figura 15. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça. | 49 |
| Figura 16. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça, log UFC/ cm ² | 50 |
| Figura 17. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça. | 50 |
| Figura 18. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça, log UFC/ cm ² | 51 |
| Figura 19. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça. | 51 |
| Figura 20. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ponto na carcaça, log UFC/ cm ² | 52 |
| Figura 21. Média geral da contagem de Coliformes totais em log UFC/ cm ² nas carcaças de suínos dos abatedouros frigorífico A (1ª coleta) e B (1ª e 2ª coleta) ao longo das etapas do processo tecnológico do abate. | 52 |

Figura 22. Detecção dos genes de virulência *stx1*, *stx2* e *eae* múltipla PCR em isolados de *Escherichia coli* oriundas de carcaça de suíno do abatedouro frigorífico B, em dois géis. 1) marcador 100bp, 2) controle negativo, 3) controle positivo para o gene *stx1* (388bp) em *Escherichia coli*, 4) isolado 10D – negativo, 5) isolado 10E – positivo para o gene *eae* (570bp), 6) isolado 11A – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx2* (807bp), 7) isolado 11D - positivo para os genes *eae* (570bp), *stx1* (388bp) e *stx2* (807bp), 8) isolado 12A – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx1* (388bp), 9) isolado 12D – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx1* (388bp).

.....63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|--|
| ABPA | Associação Brasileira de Proteína Animal |
| AOAC | Association of Official Analytical Chemists |
| APPCC | Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle |
| BHI | Caldo <i>Brain Heart Infusion</i> |
| BPF | Boas Práticas de Fabricação |
| BPLS | Ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| DTA | Doenças Transmissíveis por Alimentos |
| EAE | Intimina |
| EAgEC | <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa |
| EHEC | <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica |
| EIEC | <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva |
| EMB | Ágar Eosina Azul de Metileno |
| EPEC | <i>Escherichia coli</i> enteropatogênica |
| EUCAST | European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| ISO | International Organization for Standardization |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| MOX | Ágar Oxford Modificado |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação em Cadeia da polimerase |
| SID | Serviço de Inspeção Distrital |
| STX1 | Shiga like toxina do tipo 1 |
| STX2 | Shiga like toxina do tipo 2 |
| TSA | Ágar Triple Soy |
| TSB | Caldo Triple Soy sem glicose |
| TSI | Ágar Tríplice Açúcar Ferro |
| UFC | Unidades Formadoras de Colônia |
| UVM | Caldo University Vermont modified |
| VM | Teste de vermelho de metila |
| VP | Teste de Voges-Proskauer |
| VRBG | Ágar violeta vermelho bile glicosado |
| XLD | Ágar xilose-lisina-desoxicolato |

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização microbiológica de carcaças de suínos oriundos da região do Distrito Federal por meio da contagem de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e Coliformes totais, pesquisa de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* e detecção dos genes de virulência *stx1*, *stx2* e *eae* para *Escherichia coli*, bem como a realização de antibiograma e a verificação de formação de biofilme dos isolados. Para isso foram coletados *swabs* em cinco pontos nas carcaças (pernil, lombo, barriga, axila e papada) e em seis etapas do processo tecnológico do abate, sendo eles após a sangria, após a passagem pela depiladeira, após a toailete manual na área suja, antes e após a evisceração e após a lavagem final, anterior ao resfriamento das carcaças, em dois abatedouros frigoríficos entre o período de setembro de 2019 e a julho de 2021. Nas contagens de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e de Coliformes totais, foi possível identificar os principais pontos de contaminação em cada abatedouro frigorífico nas três coletas realizadas, sendo eles após a sangria e após a evisceração no abatedouro frigorífico A, após a toailete manual e após a evisceração no abatedouro frigorífico B na 1ª coleta, e na 2ª coleta a etapa após a evisceração para os três microrganismos. Foram isolados *Escherichia coli* nos dois abatedouros frigoríficos e *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* apenas no abatedouro frigorífico B. Foi detectada multirresistência antimicrobiana na maioria dos isolados de *E. coli*, com maiores frequências de resistência para amoxicilina, ampicilina, cloranfenicol, sulfonamidas e estreptomicina. Nos isolados de *E. coli*, também foram detectados os genes de virulência *eae*, *stx1* e *stx2*, sendo que três isolados apresentaram os três genes conjuntamente e multirresistência antimicrobiana a pelo menos seis classes de antimicrobianos. Foi detectada, ainda, alta frequência na capacidade de formação de biofilme *in vitro* moderada e forte nos isolados de *E. coli*. Houve o isolamento de *Salmonella spp.* na etapa após a sangria em um dos abatedouros frigoríficos, apresentando multirresistência antimicrobiana a pelo menos três classes de antimicrobianos e fraca capacidade de formar biofilmes ou não formar biofilmes *in vitro*. Neste mesmo abatedouro frigorífico, também houve o isolamento de *Listeria monocytogenes* na carcaça. Os isolados apresentaram resistência antimicrobiana a quatro antimicrobianos testados, e foram fracos formadores de biofilme às temperaturas de 10 °C, 24 °C e 37 °C, sendo um isolado forte formador à temperatura de 37 °C. Por ser este o primeiro estudo de caracterização microbiana em carcaças de suínos no DF, a identificação de cepas virulentas de *Escherichia coli*, multirresistentes com capacidade moderada a forte de formar biofilmes, assim como o isolamento de *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* com resistência antimicrobiana e com capacidade de formarem biofilmes demonstram potenciais riscos à saúde pública.

Palavras-chave: Suínos, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, biofilme, multirresistência antimicrobiana.

ABSTRACT

The aim of this work was to carry out the microbiological characterization of swine carcasses from the Federal District region by counting *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* and Total Coliforms, searching for *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* and to detect of virulence genes *stx1*, *stx2* and *eae* for *Escherichia coli*, as well as antibiogram and verification of biofilm formation of the isolates. For this, swabs were collected at 5 points on the carcass (leg, loin, belly pork, armpit and jowls pork) and in 6 stages of the technological process of slaughter, being them after bleeding, after passing through the epilator, after manual toileting in the dirty area, before and after evisceration and after the final carcass washing, before cooling the carcasses, in 2 slaughterhouses between September 2019 and July 2021. In the counts of *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* and total Coliforms, it was possible to identify the main contamination points in each slaughterhouse in the 3 collections carried out, being them after bleeding and after evisceration in the slaughterhouse A, after the manual toilet and after evisceration in the slaughterhouse B in the 1st collection, and in the 2nd collection the step after the evisceration for the 3 microorganisms. *Escherichia coli* were isolated in the two slaughterhouses and *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* only in slaughterhouse B. Antimicrobial multidrug resistance was detected in most *E. coli* isolates, with higher frequencies of resistance to amoxicillin, ampicillin, chloramphenicol, sulfonamides and streptomycin. The virulence genes *eae*, *stx1* and *stx2* were also detected in the *E. coli* isolates, with 3 isolates presenting the 3 genes together and antimicrobial multiresistance to at least 6 classes of antimicrobials. Furthermore, a high frequency of moderate and strong in vitro biofilm formation was detected in *E. coli* isolates. There was isolation of *Salmonella* spp. in the stage after bleeding in one of the slaughterhouses, presenting antimicrobial multiresistance to at least 3 classes of antimicrobials and weak ability to form biofilms or did not form biofilms *in vitro*. In this same slaughterhouse there was also the isolation of *Listeria monocytogenes* in the carcass. The isolates showed antimicrobial resistance to 4 tested antimicrobials, and were weak biofilm formers at temperatures of 10 °C, 24 °C and 37 °C, with a strong forming isolate at 37 °C. As this is the first study of microbial characterization in swine carcasses in DF, the identification of virulent strains of *Escherichia coli*, multiresistant with moderate to strong capacity to form biofilms, as well as the isolation of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* with antimicrobial resistance and the ability to form biofilms demonstrate potential risks to public health.

Keywords: Swine, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, biofilms, antimicrobial multiresistance.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 JUSTIFICATIVA | 18 |
| 3 OBJETIVOS | 21 |
| 3.1 Objetivo geral..... | 21 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 21 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 4.1 Origem das amostras..... | 22 |
| 4.2 Contagem de Enterobacteriaceae, Escherichia coli e Coliformes totais..... | 23 |
| 4.3 Isolamento de Escherichia Coli, Salmonella spp. e Listeria monocytogenes | 23 |
| 4.4 Confirmação dos isolados de Salmonella spp. e Listeria monocytogenes por PCR. .. | 25 |
| 4.5 Antibiograma dos isolados | 26 |
| 4.6 Pesquisa de Genes de virulência de Escherichia coli por PCR..... | 27 |
| 4.7 Avaliação da capacidade de formação de biofilme in vitro | 27 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 5.1 Contagem de Enterobacteriaceae, Escherichia coli e Coliformes Totais | 30 |
| 5.1.1 Enterobacteriaceae..... | 37 |
| 5.1.2 Escherichia coli..... | 43 |
| 5.1.3 Coliformes totais..... | 49 |
| 5.2 Isolamento de Escherichia coli | 56 |
| 5.3 Antibiograma dos isolados de Escherichia coli..... | 57 |
| 5.4 Detecção dos genes de virulência eae, stx1 e stx2 em Escherichia coli | 62 |
| 5.5 Isolamento, confirmação de Salmonella spp. e antibiograma | 66 |
| 5.6 Isolamento, confirmação de Listeria Monocytogenes e antibiograma | 68 |
| 5.7 Avaliação da capacidade de formação de biofilme in vitro de Escherichia coli, Salmonella spp. e Listeria monocytogenes | 70 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 76 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 78 |
| APÊNDICES | 99 |
| APÊNDICE I - CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> DAS CARCAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO A, POR TEMPERATURA E TEMPOS DE INCUBAÇÃO, DE ACORDO COM STEPANOVIC <i>ET AL.</i> (2000). | 99 |

| | |
|---|------------|
| APÊNDICE II - CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> DAS CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, POR TEMPERATURA E TEMPOS DE INCUBAÇÃO, DE ACORDO COM STEPANOVIC <i>ET AL.</i> (2000). | 100 |
| APÊNDICE III - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO A, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO..... | 101 |
| APÊNDICE IV - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> OBTIDOS DE CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO..... | 104 |
| APÊNDICE V - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE <i>SALMONELLA</i> SPP. OBTIDOS DE CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO..... | 108 |
| APÊNDICE VI - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME, EM TRIPLICATA, DOS ISOLADOS DE <i>LISTERIA MONOCYTOGESNES</i> OBTIDOS DE CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO | |

DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO. 109

1 INTRODUÇÃO

A produção brasileira de carnes suínas em 2020 foi de aproximadamente 4,5 milhões de toneladas, com mais de 1 milhão de toneladas direcionadas à exportação, tendo o mercado interno absorvido mais de 3 milhões de toneladas, com consumo de 16 kg por habitante (ABPA, 2021). Nesse contexto, segundo a ABPA (2021), o Brasil foi o quarto maior exportador de carne suína mundial, ficando o Distrito Federal (DF) responsável por 0,4% da criação brasileira de suínos, com aproximadamente 200 mil cabeças em 2020 (IBGE, 2021).

Para o Brasil alcançar a posição de 4º lugar na exportação mundial de carnes suínas, Morés *et al.* (2018, 2019) e Wilbert *et al.* (2019) destacam que foi preciso intensificar a produção, fato que culminou em altas densidades de animais, modificações do manejo nutricional e ambiental da criação, gerando uma pressão sanitária e ocorrência de doenças (LIMA, 2019). Desta forma, tem sido associado às criações de suínos o uso de antimicrobianos como método profilático, metafilático, terapêutico e como promotores de crescimento, uma vez que se observou maior desempenho, com maior ganho de peso, melhores taxas de concepção e sobrevivência de leitegadas (STELLA *et al.*, 2020; OLLÉ *et al.*, 2017). Segundo Michael, Dominey-Howes e Labbate (2014), Silva *et al.* (2017), Stella *et al.* (2020) e Ollé *et al.* (2020), o uso indiscriminado de antimicrobianos na criação de animais e o uso inadequado em humanos foram fatores que contribuíram para o aumento da resistência a antimicrobianos.

A contaminação microbiológica de alimentos é um problema mundial, havendo vários perigos microbiológicos associados a doenças de origem alimentar (FAO/WHO, 2011). As bactérias respondem por dois terços das causas de surtos de doenças de origem alimentar, em que os animais são os principais carreadores da carga microbiana nos produtos de origem animal, devido às contaminações, tanto a partir do conteúdo gastrointestinal, como das áreas do ambiente de processamento (SAMULAK *et al.*, 2011; ABEBE e AHMED, 2020).

Os microrganismos mais envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* (NEWEL *et al.*, 2010; ABEBE e AHMED, 2020; WHITHAM *et al.*, 2021). O *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2016) elaborou um guia, para governos e indústrias, para realização do controle de *Salmonella* não tifóide na obtenção das carnes bovinas e suínas, objetivando a redução daquele patógeno causando doença quando veiculado nestes alimentos. Desta forma, a legislação brasileira determina o controle microbiológico em carcaça de bovinos e suínos em abatedouros frigoríficos com objetivo de avaliar a higiene do processo e reduzir a prevalência de agentes patogênicos (BRASIL, 2018). E ainda, de modo a avaliar as condições

higiênicas do abate, e acompanhando a tendência internacional de análises, a família *Enterobacteriaceae* foi incluída na avaliação de *swabs* de carcaças a partir de esfregadura das carcaças após a lavagem final, antes do resfriamento (BRASIL, 2018; BRASIL, 2021a).

As análises com base na família *Enterobacteriaceae* são realizadas como indicadoras das condições de higiene do abate, uma vez que podem ser encontradas tanto no ambiente como no intestino de animais de sangue quente, o que pode indicar a contaminação do alimento direta ou indiretamente por conteúdo fecal (CORBELLINI *et al.*, 2016). Esta família é composta por microrganismos Gram negativos, fermentadores de glicose, oxidase negativo e, normalmente, catalase positivo e redutores de nitrato (BARCO *et al.*, 2014). Dentro dessa família de microrganismos, a *Escherichia coli* é a mais relevante entre aqueles de origem fecal (BARCO *et al.*, 2014). A maioria das cepas de *E. coli* não causam doenças, mas algumas podem causar severa doença de origem alimentar, como a *E. coli* produtora de *shiga* toxina, ou STEC, causadora da síndrome hemolítica urêmica (WHO, 2018a). Ela possui ainda outros quatro grupos de virulência: a enteropatogênica (EPEC), enteroagregativa (EAgEC), a enteroinvasiva (EIEC) e a enterohemorrágica (EHEC) (ABEBE e AHMED, 2020).

Também da família *Enterobacteriaceae*, a *Salmonella* spp. é reconhecida como uma das principais causas de gastroenterite humana no mundo (FAO/WHO, 2016). São divididas em duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo que a última possui os dois mais importantes sorotipos de *Salmonella* transmitida dos animais para os humanos: a *Salmonella enterica* sorotipo Enterica e a *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium (WHO, 2018b). A salmonelose é geralmente adquirida em humanos via alimentos de origem animal contaminados, apesar de outros alimentos também estarem implicados em transmissões, como os vegetais (WHO, 2018b). Suínos são conhecidos por serem carreadores assintomáticos de *Salmonella*, podendo ocorrer a liberação do agente em situações de estresse, como no pré-abate, levando a contaminações na carne (KICH & CARDOSO, 2013; BIASINO *et al.*, 2018).

A *Listeria monocytogenes* também pode ser encontrada em carcaças suínas (PISSETTI *et al.*, 2012). No entanto, não é caracterizada como risco direto em doenças transmitidas por alimentos, sendo sua pesquisa regulamentada apenas em produtos de origem animal prontos para o consumo (KICH *et al.*, 2020; BRASIL, 2009).

No Brasil são poucos os trabalhos que promoveram a caracterização microbiológica em carcaças de suínos, sendo que em sua maioria abrangem um ou dois microrganismos, em especial a *Salmonella* spp. (PISSETTI *et al.*, 2012; CORBELLINI *et al.*, 2016; ZERO & RODRIGUES, 2017; PAIM *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2021). Rodrigues *et al.* (2021) avaliaram a microbiota de carcaças suínas e utensílios, em abatedouro

no Rio Grande do Sul, realizando a identificação e a contagem de aeróbios mesófilos, *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais, Coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e bactérias heterotróficas em oito pontos do abate, e quatro pontos na carcaça. No Distrito Federal, Silva *et al.* (2018) realizaram estudo da prevalência de *Salmonella* spp. em abatedouros de suínos, a partir de amostras de *swabs* de carcaças e de amostras de linfonodos mesentéricos.

De acordo com Pinto (2004) e Costa *et al.* (2020), a avaliação de microrganismos nas carcaças é importante para a realização de uma análise de risco e a identificação de pontos críticos de controle dentro do abate de suínos, devendo haver monitoramento e alteração sempre que necessário. A avaliação de risco com base em dados é uma forma de garantir a segurança dos alimentos (FAO/WHO, 1999). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa, a identificação e a caracterização dos microrganismos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Escherichia coli*, bem como proceder às contagens de *Enterobacteriaceae* e de *Escherichia coli* em diferentes pontos da carcaça e em diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em abatedouros frigoríficos localizados na região do Distrito Federal.

2 JUSTIFICATIVA

Segundo Adell *et al.* (2018), no Brasil, o número de trabalhos referentes aos agentes envolvidos em DTAs vem crescendo e abrangendo um maior número de microrganismos. Ainda segundo esses autores, têm sido utilizadas técnicas mais modernas de detecção, tais como a caracterização das espécies por sequenciamento de DNA, e a maioria dos artigos publicados demonstram a presença do patógeno, mas não o quantificam em determinados alimentos, sendo que a contagem também é importante para a análise de risco, pois quantifica o risco e direciona o processo decisório.

Os principais microrganismos estudados, com o objetivo de verificar a qualidade higiênico-sanitária das instalações e de procedimentos, são aqueles envolvidos em surtos alimentares, tais como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga, *Campylobacter spp.*, e *Vibrio parahaemolyticus* (CÊ, 2016; BARRETO, 2017; RIVERA *et al.*, 2018; ADELL *et al.*, 2018).

A presença desses patógenos em cada tipo de alimento permite uma melhor análise de riscos e das estratégias para seu controle e, assim, para a qualidade do produto (BOHAYCHUK; GENSLER e BARRIOS, 2011; KASE, ZHANG e CHEN 2017). Estudos de caracterização microbiológicas são necessários para confirmar a efetividade dos programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e Boas Práticas de Fabricação (BPF), usados na produção de carnes em abatedouros para ampliar o mercado, como demonstração de qualidade quanto aos níveis de higiene das plantas de processamento dos abatedouros, e também porque podem demonstrar problemas higiênicos no processamento, o que pode refletir negativamente na imagem da indústria alimentícia, quando tem seus produtos recolhidos (BOHAYCHUK; GENSLER e BARRIOS, 2011; FAO/WHO, 2016).

A qualidade microbiológica dos alimentos é um aspecto crucial para a saúde pública, em especial quando se fala em patógenos emergentes em suínos, devido à ocorrência de toxinfecções ocasionadas pelo consumo de produtos contaminados (GAMARRA, 2007). Como alguns microrganismos podem sobreviver por longos períodos nos ambientes, os animais portadores constituem uma fonte de infecção, tanto para animais quanto para humanos (GAMARRA, 2007). Atualmente os métodos tradicionais de isolamento de microrganismos patogênicos de origem alimentar envolvem o crescimento em meio de cultura, seguido de isolamento para identificação do patógeno e métodos de diagnóstico moleculares, de modo a garantir maior sensibilidade, especificidade e acurácia (MANDAL *et al.*, 2011; CHOI *et al.*, 2019).

Outro aspecto importante na presença de bactérias em alimentos, e que vem sendo discutido mundialmente, é o aumento da resistência antimicrobiana (WHO, 2017). De acordo com Jeannot, Bolard e Plésia (2017), diversos estudos vêm relatando a presença de bactérias com genes de múltipla resistência antimicrobiana, em especial, aqueles classificados como de última linha terapêutica, ou antibióticos criticamente importantes para uso em humanos, como classificado pela Organização Mundial de Saúde. É o caso da colistina, uma polimixina que vem sendo reintroduzida no combate a esse tipo de bactéria em humanos e que foi utilizada como promotor de crescimento em criações animais em alguns países, como China, Índia e Japão, e no combate de infecções intestinais em suínos relacionadas às infecções de espécies da família *Enterobacteriaceae*, inclusive no Brasil (KEMPF, JOUY e CHAUVIN, 2016; SUN *et al.*, 2018).

Em 2015, após a descoberta por Liu *et al.* (2016) do gene de resistência a polimixinas, *mcr-1*, mais de 30 países, nos cinco continentes, relataram a presença desse gene em cepas de *Enterobacteriaceae* a partir de amostras de alimentos, humanos e de amostras ambientais, elevando a escala na crise da resistência a antimicrobianos (JEANNOT; BOLARD e PLÉSIA, 2017). Além disso, segundo Sun *et al.* (2018), outras onze variantes genéticas do gene *mcr-1*, designadas *mcr-1.2* até *mcr-1.12* foram identificadas em diferentes países.

No Brasil, são poucos trabalhos a respeito de caracterização microbiológica em carcaças de suínos que realizam, além da avaliação da microbiota superficial das carcaças suínas, a avaliação do perfil antimicrobiano conjuntamente à detecção de genes de virulência nos microrganismos isolados. Kich *et al.* (2020) estudaram a frequência de *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* em associação à análise de risco em abatedouros de suínos também no Sudeste brasileiro, em três abatedouros sob inspeção federal com realização de antibiograma.

O Distrito Federal (DF) não possui nenhum estudo a respeito da caracterização microbiológica de carcaças de suínos, bem como não há relatos a respeito do perfil de resistência microbiana dos isolados de cepas encontradas em carcaças suínas, nem pesquisa quanto à detecção de genes de virulência desses isolados. Desta forma, este trabalho teve por objetivo promover a caracterização microbiológica de carcaças de suínos em relação à pesquisa dos microrganismos *E. coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*, avaliando os principais pontos de contaminação no fluxograma de tecnologia de abate. Objetivou, ainda, realizar as contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *E. coli*, nas superfícies das carcaças de suínos de abatedouros frigoríficos localizados na região do Distrito Federal, bem como verificar

o perfil de resistência antimicrobiana por meio de antibiogramas e pesquisa de genes de virulência.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar a caracterização microbiológica por meio da contagem de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli*, e o isolamento e a identificação de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* em superfícies de carcaças de suínos oriundos da região do Distrito Federal.

3.2 Objetivos específicos

- i. Realizar a contagem de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* da superfície de carcaças suínas em diferentes pontos da carcaça e em diferentes etapas do abate;
- ii. Realizar o isolamento e a identificação dos microrganismos *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, em diferentes pontos da superfície de carcaças de suínos e em diferentes etapas do abate;
- iii. Realizar o teste de resistência antimicrobiana a partir dos microrganismos isolados de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*;
- iv. Realizar a pesquisa de genes de virulência nos isolados de *Escherichia coli*; e
- v. Realizar o teste de verificação da capacidade de formação de biofilme *in vitro* dos isolados de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* em diferentes temperaturas e tempos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Origem das amostras

A pesquisa foi realizada em dois abatedouros frigoríficos de suínos (abatedouros frigoríficos A e B), localizados na região do Distrito Federal, sob inspeção oficial distrital (SID), entre o período de setembro de 2019 a julho de 2021. As indústrias aceitaram participar desta pesquisa de forma espontânea e voluntária, e os suínos não eram oriundos de granjas integradas. Foram realizadas três coletas e, em cada coleta, uma carcaça foi selecionada aleatoriamente e acompanhada em cada etapa do processo tecnológico do abate para a realização da esfregadura em pontos definidos na superfície da carcaça. Em cada visita, realizou-se uma coleta, sendo uma coleta/visita no abatedouro frigorífico A e duas no abatedouro frigorífico B.

As amostras foram obtidas a partir de *swabs* estéreis de algodão (Absorve®), utilizados juntamente com moldes esterilizados de poliamida e de aço inox, respectivamente de área de 9 cm², na coleta do abatedouro frigorífico A, e de 100 cm², na coleta do abatedouro frigorífico B. Os *swabs* eram previamente umedecidos em água peptonada a 0,1% estéril e, após a esfregadura, eram depositados individualmente em tubos contendo essa solução de transporte, de acordo com o protocolo descrito por Corbellini *et al.* (2016) e Davanzo *et al.* (2021).

Foram selecionados cinco pontos/locais na carcaça de suíno e seis pontos/etapas do processamento tecnológico do abate de suínos. Os pontos/locais escolhidos para coleta das amostras de *swabs* nas carcaças dos suínos seguiram os protocolos descritos por Matsubara (2005), do Manual de Coleta de Amostras de Produtos de Origem Animal do MAPA (BRASIL, 2017) e por Cê (2016). Desta forma, os pontos/locais amostrados nas carcaças de suínos foram: pernil, lombo, barriga, axila e papada. Para cada ponto/local, foi utilizado um *swab* estéril (Absorve®).

As coletas realizadas nos pontos das carcaças foram amostradas em cada uma das etapas selecionadas do processo tecnológico do abate, as quais foram: após a sangria, após a depiladeira, após a depilação manual (toailete), antes e após o procedimento de evisceração e após a lavagem da carcaça na área limpa, antes da entrada da carcaça na câmara de resfriamento. Desta forma, a mesma carcaça, selecionada aleatoriamente, foi acompanhada coletando-se amostras de *swabs* nesses seis pontos/etapas do processo tecnológico do abate, perfazendo para cada abatedouro frigorífico 30 amostras de *swabs*, sendo o total de 90 amostras para os dois estabelecimentos.

4.2 Contagem de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e Coliformes totais

Para a contagem de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli*, utilizou-se o método AOAC - Association of Official Analytical Chemists (SILVA *et al.*, 2017), com placas da 3M™ Petrifilm™ *Enterobacteriaceae* Count Plate (EB) e Petrifilm™ 3M™ *E. coli*/Coliform Count Plate (EC). Para a realização da análise, seguiram-se as recomendações do fabricante, sendo inoculado 1ml da solução de transporte (água peptonada a 0,1%), após homogeneização dos tubos de ensaio contendo os *swabs*, em cada placa 3M™ Petrifilm™ de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e Coliformes totais, sendo as placas posteriormente incubadas em estufa bacteriológica (Quimis®), a 35 °C ± 1 °C, durante 24 horas.

Também foi utilizada a metodologia de contagem em profundidade em ágar violeta vermelho bile glicosado - VRBG (Acumedia®), de acordo com a norma ABNT NBR ISO 21528-2:2020, para a contagem de *Enterobacteriaceae*. Dessa forma, a contagem de *Enterobacteriaceae* neste estudo foi realizada utilizando-se placas 3M™ Petrifilm™ e inoculação em ágar VRBG (Acumedia®), de acordo com a disponibilidade dos produtos para realização dos experimentos. Após a inoculação das amostras nos meios de cultivo, estes foram incubados à temperatura de 35 °C por 24 horas em estufa bacteriológica (Quimis®).

Os valores obtidos das contagens de cada análise foram também convertidos em resultados logarítmicos.

4.3 Isolamento de *Escherichia Coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*

Os isolamentos foram realizados com as amostras de *swabs* da primeira e única coleta do abatedouro frigorífico A e da segunda coleta do abatedouro frigorífico B.

Para o isolamento de *E. coli*, os *swabs* foram semeados diretamente em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) (KASVI®), as quais foram incubadas a 37 °C durante 24 horas em estufas bacteriológicas (Quimis®). As colônias consideradas típicas, ou seja, com desenvolvimento de colônias preto-azuladas com reflexo verde metalizado, característicos de *E. coli*, Gram negativas e oxidase negativas foram submetidas às provas bioquímicas de Citrato Simmons, Indol, Teste de vermelho de metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) seguindo o protocolo descrito por Silva *et al.* (2017) para a confirmação do microrganismo.

Para o isolamento de *Salmonella spp.*, seguiu-se a metodologia preconizada pela ISO 6579/2002 (ISO, 2002). Após homogeneização dos tubos de ensaio contendo os *swabs*, foi aliquoteado 1 ml da solução de transporte e transferido para tubos contendo 9 ml de água

peptonada tamponada a 1% (KASVI[®]), os quais foram incubados em estufa bacteriológica (Quimis[®]) a 37° C por 24 horas. Após esse período, foi transferido 1 ml dessa solução para 10 ml de caldo Tetrionato (Merck[®]), que foi incubado em estufa bacteriológica (Fanem[®]) a 42 °C por 24 horas, e 0,1 ml para 10 ml de Caldo Rappaport Vassiliadis (Merck[®]), incubado em estufa bacteriológica (Quimis[®]) a 35 °C por 24 horas. Posteriormente, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, os caldos supracitados foram plaqueados por esgotamento em estrias em meio seletivo Ágar Verde Brillante Vermelho de Fenol (BPLS) (Acumedia[®]) e ágar XLD (Merck[®]) e incubados a 37 °C (ágar BPLS e XLD) por 24 horas. Para as colônias sugestivas, ou seja, aquelas que se apresentavam em ágar vermelho e colônias com centro enegrecido no ágar XLD, e no ágar BPLS, com halo vermelho e esbranquiçadas, realizaram-se os testes bioquímicos em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (Acumedia[®]), hidrólise da ureia, pesquisa da produção de indol, prova de Voges-Proskauer (VP), prova do Vermelho de Metila (VM) e prova de utilização do citrato, de acordo com Silva et al. (2017). Realizou-se também a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para identificação e confirmação do gênero *Salmonella* spp., de acordo com Freitas et al. (2010) e Alvarez et al. (2004).

Para o isolamento de *Listeria monocytogenes*, utilizou-se a metodologia preconizada por Ryser & Donnelly (2015). A partir da solução de transporte a 0,1% contendo os swabs, homogeneizada, transferiu-se 1 ml para o caldo UVM (Acumedia[®]), sendo este incubado a 35 °C durante 24 horas. Posteriormente, inoculou-se 0,1 ml a partir do UVM (Acumedia[®]) em 10 ml de Caldo Fraser (Acumedia[®]), incubando-se a 35 °C por 24 horas. Após esse período, os tubos de caldo Fraser que apresentaram hidrólise da esculina foram plaqueados com auxílio de uma alça de níquel-cromo por esgotamento em placas de ágar Oxford Modificado (MOX) (KASVI[®]), que foram incubadas a 35°C por 24 horas. Os tubos de caldo Fraser que não apresentaram hidrólise da esculina foram mantidos incubados a 35 °C por mais 24 horas, antes de serem descartados. As colônias pequenas e com halo de hidrólise de esculina foram transferidas para caldo Brain Heart Infusion (BHI) (KASVI[®]) e incubadas a 37 °C por 18 a 24 horas para realização do teste de turbilhonamento, com gotícula retirada do caldo BHI, coloração Gram, teste da catalase e teste de verificação de hemólise. Para a identificação e confirmação da *Listeria monocytogenes*, utilizou-se a técnica de análise de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), conforme preconizado por Kérouanton et al. (2010).

4.4 Confirmação dos isolados de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* por PCR.

Para confirmação molecular dos isolados de *Salmonella* spp., foram utilizados os primers OMPCF e OMPCR (ALVAREZ *et al.*, 2004), para detecção do gene *ompC*, seguindo-se o protocolo descrito por Freitas *et al.* (2010).

Para a amplificação do gênero *Salmonella* spp., primeiramente as colônias eram purificadas em ágar XLD (Merck®) e posteriormente cultivadas em ágar nutriente (KASVI®), de onde eram coletadas por arrasto, com o auxílio de ponteiras previamente esterilizadas, e inseridas em microtubos contendo 100 µl de água milliQ. Os microtubos eram submetidos à fervura por 10 minutos. Utilizava-se, então, 5µl do produto da fervura (com estimativa de 5 ng/µl de concentração de DNA total), na reação que continha: 0,5µl de cada primer na concentração de 5 pmoles/ µl, 2U de Taq DNA polimerase (PHT®), 2mM de desoxirribonucleotídeos fosfatados (Invitrogen®), tampão 1X (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl - PHT®), 1.5 mM de MgCl₂ (PHT®). O volume final da reação foi de 25 µl.

A PCR foi realizada em aparelho termociclador (MyCycler thermal cycler – Bio-rad®), iniciada por 1 ciclo de desnaturação de 2s a 94 °C, seguida por 30 ciclos de 1min a 94 °C para amplificação, 1min a 57 °C para o anelamento e 2min e 30s a 72 °C para o alongamento, seguido de um ciclo de extensão final por 5min a 74 °C anteriormente ao resfriamento a 4 °C.

Para a confirmação molecular da espécie *Listeria monocytogenes*, utilizou-se o protocolo descrito por Kérouanton *et al.* (2010), utilizando-se os primers LIP1 e LIP2, para o gene *prfA*, e os primers PRS1 e PRS2 para o gene *prs*, em reações multiplex de volume final de 25 µl. Cada reação foi composta por 0,5 µl de cada primer, 2U de Taq DNA polimerase (PHT®), 2mM de desoxirribonucleotídeos fosfatados (Invitrogen®), tampão 1X (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl - PHT®), 1.5 mM de MgCl₂ (PHT®).

Para a amplificação da *Listeria monocytogenes*, realizou-se um ciclo de desnaturação de 3min a 94 °C, seguidos por 35 ciclos de 40s de amplificação a 94 °C, 45s de anelamento à temperatura de 53 °C, 1min15s de alongamento a 72 °C, seguido de um ciclo de extensão final de 72 °C durante 7min.

Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose (Invitrogen®) 2%, corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml), em aparelho de transiluminador (Imagequant – Gelifesciences) e em fotodocumentador (Major Science UVDI®), e os produtos da PCR esperados eram de tamanho 204 bp para *Salmonella* spp., e de 370 bp, para o gene *prs* e 274bp para o gene *prfA*, para confirmação de *Listeria monocytogenes*.

4.5 Antibiograma dos isolados

As amostras isoladas de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* foram submetidas ao antibiograma pela técnica de disco difusão, padronizado pelo manual do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012). Os isolados foram repassados em placas de ágar nutriente (KASVI[®]) e incubados a 37 °C por 24 horas. Logo após, as colônias eram suspensas em solução salina 0,85% estéril até se obter uma turvação compatível com a escala de Mac Farland (1×10^8 UFC/ml). Com um *swab* estéril embebido nessa solução, realizou-se o esfregaço em placas com ágar Muller Hinton (KASVI[®]), semeando-se em toda a superfície. Para o antibiograma dos isolados de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli*, foram colocados cinco discos (SENSIDISC DME[®]) sobre a superfície do ágar, com as seguintes bases farmacológicas:

- Quinolonas: ácido nalidíxico (NAL: 30 µg), ciprofloxacino (CIP: 5 µg);
- β-Lactâmicos: amoxicilina (AMX: 10 µg), ampicilina (AMP: 10 µg);
- Cefalosporinas: cefazolina (CFZ: 30 µg), ceftazidima (CAZ: 30 µg);
- Anfenicóis: cloranfenicol (CLO: 30 µg);
- Polimixina: colistina (COL: 10 µg);
- Tetraciclínas: tetraciclina (TET: 30 µg), doxiciclina (DOX: 30 µg);
- Macrolídeos: eritromicina (ERI: 15 µg);
- Aminoglicosídeos: estreptomicina (EST: 10 µg), gentamicina (GEN: 10 µg);
- Sulfonamida: sulfonamidas (SUL: 300 µg).

Para o antibiograma de *Listeria monocytogenes*, também foi utilizado o ágar Muller Hinton Sangue 5% (LB Laborclin[®]) e os discos com os seguintes antibióticos:

- Ampicilina (AMP: 10 µg) (DME[®]);
- Eritromicina (ERI: 15 µg) (DME[®]);
- Meropenem (MER: 10 µg) (CECON[®]); e
- Sulfazotrim (SUT: 1,25 µg trimetoprim + 23,75 µg sulfametoxazol) (CECON[®]).

Os resultados seguiram o padrão CLSI M100-ED31:2021 (CLSI, 2021), exceto para colistina, para o qual foram utilizados os limites estabelecidos previamente por Gales, Reis e Jones (2001), adotando-se como resistência as áreas ≤ 11 mm e sensível as áreas ≥ 14 mm, mesmo o teste de disco-difusão não sendo considerado o melhor método. Para os resultados de *Listeria monocytogenes*, foi utilizado o padrão EUCAST (2021).

4.6 Pesquisa de Genes de virulência de *Escherichia coli* por PCR

Foram pesquisados por PCR os genes de toxina de Shiga tipos 1 e 2 (*Stx1*, *Stx2*) e o gene *eae*, que é uma intimina responsável pelo mecanismo de virulência de "attaching and effacing", de acordo com China, Pirson e Mainil (1996).

Todas as reações continham um volume final de 25 µl, sendo 5 µl do produto da fervura (10 minutos) das colônias em água milliQ, contendo 5 ng/µl de DNA total estimado, tampão 1X (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500 mM KCl - PHT®), 2,0mM de dNTPs, 2U de taq DNA polimerase (PHT®), 2mM de desoxirribonucleotídeos fosfatados (Invitrogen®), 3 mM de MgCl₂ (PHT®) e primers nas concentrações de 1 µM. Todas as reações ocorreram em termociclador MyCycler (BioRad®). Os genes utilizados e as condições de desnaturação, anelamento e extensão foram aquelas utilizadas pelos autores listados na Tabela 2, bem como o tamanho do *amplicom* gerado em gel de agarose 1,5 % (Invitrogen®), corado com brometo de etídio (0,5 µg/ml), visualizado em aparelho de transiluminador (Imagequant – Gelifesciences®) e em fotodocumentador (Major Science UVDI®). Os controles positivos para os genes *stx1*, *stx2* e *eae* foram utilizados da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/FAV/UnB.

Tabela 1. Lista de *primers* utilizados para detecção de genes de virulência nos isolados de *Escherichia coli*.

| Gene/ nome | Sequência de nucleotídeos (5'-3') | Tamanho (pb) | Temperatura de anelamento (°C) | Referência |
|---------------|--|-----------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Stx-1 | F-AGA GCG ATG TTA CGG TTT G R-TTG CCC CCA GAG TGG ATG | 388 | 50 | China, Pirson e Mainil, 1996 |
| Stx-2 | F- TGG GTT TTT CTT CGG TAT C R- GAC ATT CTG GTT GAC TCT CTT | 807 | 50 | China, Pirson e Mainil, 1996 |
| eae | F- AGG CTT CGT CAC AGT TG R-CCA TCG TCA CCA GAG GA | 570 | 50 | China, Pirson e Mainil, 1996 |

4.7 Avaliação da capacidade de formação de biofilme in vitro

Os isolados de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* foram submetidos ao protocolo descrito por Djordjevic, Wiedmann e McLandsborough (2002) e adaptado por Borges *et al.* (2018), para avaliação da capacidade de formação de biofilmes *in*

vitro. Uma colônia de cada isolado, de cada etapa do abate e carcaça, foi repassada em ágar Triple Soy (TSA) (Acumedia®) e incubada a 37 °C, durante 24 horas em estufa bacteriológica (Quimis®). A partir do crescimento, uma colônia era transferida para 10 ml de caldo Triple Soy sem glicose (TSB) (KASVI®) e incubada em iguais condições. Posteriormente, alíquotas do caldo foram transferidas a 2 ml de caldo TSB até que apresentasse nível de turvação igual ao da escala 1 de MacFarland (Probac do Brasil®), ou seja, equivalente a 3×10^8 UFC/ml.

Desta diluição, 200 µl de cada amostra foram transferidos, em triplicata, nos poços de uma microplaca de poliestireno de 96 poços estéril (Kartell®). Os três primeiros poços foram preenchidos com 200 µl de caldo TSB sem amostra, como controle negativo. Foram preenchidas três placas para serem incubadas a 37 °C, 25 °C e 10 °C. As temperaturas a 37 °C e 25 °C foram realizadas em estufa bacteriológica (Quimis® e Fanem®, respectivamente), para a temperatura de refrigeração a 10 °C, as placas foram incubadas em geladeira (Eletrolux®). Cada temperatura foi incubada nos seguintes tempos: 24 horas, 48 horas e 72 horas. As placas foram cobertas com papel filme e incubadas aerobicamente.

Após o período de incubação, os inóculos eram retirados com auxílio de pipeta para posterior lavagem. A lavagem foi realizada com solução salina a 0,9% estéril, por três vezes. Após a lavagem, as placas secavam em temperatura ambiente, dentro da capela de fluxo laminar por 15 minutos. Após a secagem, foram adicionados 200 µl de metanol PA (Vetec® – Sigma-Aldrich) em cada poço, agindo por 15 minutos e retirado por inversão da placa, deixando-a secar, novamente por 15 minutos, em temperatura ambiente, dentro da capela de fluxo laminar. Após a secagem, adicionaram-se 200 µl de cristal violeta de Hucker 1% (Newsprov®) para corar as áreas de aderência dos isolados, deixando agir por 10 minutos e procedendo-se à nova lavagem, com água corrente, e secagem em temperatura ambiente. Posteriormente, adicionaram-se 200 µl de ácido acético a 33% (J. T. Baker®) em cada poço para realização da leitura em leitor de ELISA (Biotek® ELx800), em comprimento de onda de 490 nm.

O resultado foi considerado a média das leituras dos três poços de cada amostra e comparou-se ao controle negativo (DON). De acordo com Stepanović *et al.* (2000), as interpretações para a capacidade de formação de biofilme foram:

- Não formador de biofilme (NF), quando a densidade óptica do isolado (DO_i) foi menor ou igual a DON (DO_i ≤ DON);
- Fracamente formador (FF), quando a DON < DO_i ≤ 2x DON;
- Formador de biofilme moderado (FM), se 2xDON < DO_i ≤ 4xDON; e
- Forte formador de biofilme (FFO), se 4xDON < DO_i.

A análise estatística dos dados foi realizada para verificar a capacidade de cada bactéria e de cada isolado de formar biofilme por análise de correspondência, teste do Qui-quadrado e teste de Fisher quando pertinente, verificando-se a maior ou menor capacidade de formação entre as temperaturas, tempos e entre os locais de coleta no abate e nos locais de coleta na carcaça. Todas as análises foram efetuadas utilizando o software SAS[®] (v.9.4, Cary, North Carolina) em nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Contagem de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e Coliformes Totais

Os resultados da contagem de *Enterobacteriaceae*, de Coliformes totais e *Escherichia coli* obtidos de cada local/ponto da carcaça de suínos, bem como de cada etapa do processamento tecnológico do abate de suínos, por coleta e para cada abatedouro frigorífico A e B, encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continua)

| Etapa do processamento do abate | Coletas por Abatedouro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|---------------------------------|---|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| Após a sangria | 1ª Coleta (A) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 2,5 x 10 ² (2,40 log) | 1,3 x 10 ¹ (1,11 log) | 9,2 x 10 ² (2,96 log) | 2,6 x 10 ² (2,41 log) | NR* | 2,56 |
| | | Coliformes totais | 1,8 x 10 ² (2,26 log) | 0,9 x 10 ¹ (0,95 log) | 8,2 x 10 ¹ (1,91 log) | 2,6 x 10 ¹ (1,41 log) | NR* | 1,87 |
| | | <i>E. coli</i> | 1,0 x 10 ² | 0,2 x 10 ¹ | 7,0 x 10 ¹ | 2,1 x 10 ¹ | NR* | 1,69 |
| | | <i>Enterobacteriaceae</i> | 8,0 x 10 ¹ (1,90 log) | 6,1 x 10 ¹ (1,77 log) | 4,0 x 10 ¹ (1,60 log) | 6,0 x 10 ¹ (1,60 log) | 1,4 x 10 ² (2,15 log) | 1,88 |
| | | Coliformes totais | > 10 ⁴ (est) (4,0 log) | 0,6 x 10 ¹ (0,78 log) | > 10 ⁴ (est) (4,0 log) | > 10 ⁴ (est) (4,0 log) | > 10 ⁴ (est) (4,0 log) | 3,90 |
| | | <i>E. coli</i> | 0,4 x 10 ¹ (est) | 0,3 x 10 ¹ (est) | >10 ⁴ (est) | >10 ⁴ (est) | >10 ⁴ (est) | 3,78 |
| | 3ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | NC** | 0,8 x 10 ¹ (1,9 log) | 1,2 x 10 ³ (3,08 log) | 0,6 x 10 ² (1,77 log) | 9,8 x 10 ² (2,99 log) | 2,67 |
| | | Coliformes totais | 2,0 x 10 ¹ (1,3 log) | NC** (-3 log) | 5,8 x 10 ² (2,76 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,3 log) | 4,3 x 10 ² (2,63 log) | 2,32 |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | 2,8 x 10 ² | NC** | 2,1 x 10 ² | 1,99 |

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continuação)

| Etapa do processamento do abate | Coletas por Abatedouro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|---------------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| Após a depiladeira | 1 ^a Coleta (A) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 3,9 x 10 ¹ (1,59 log) | 3,2 x 10 ² (2,50 log) | 3,8 x 10 ¹ (1,58 log) | 2,1 x 10 ² (2,32 log) | 2,8 x 10 ² (2,45 log) | 2,25 |
| | | Coliformes totais | 2,6 x 10 ¹ (1,41 log) | 3,1 x 10 ¹ (1,49 log) | 9,1 x 10 ¹ (1,96 log) | 2,9 x 10 ¹ (1,46 log) | 5,3 x 10 ¹ (1,76 log) | 1,66 |
| | | <i>E. coli</i> | 2,1 x 10 ¹ | 1,3 x 10 ¹ | 0,7 x 10 ¹ | 0,2 x 10 ¹ | 0,4 x 10 ¹ | 0,97 |
| | | <i>Enterobacteriaceae</i> | 0,4 x 10 ¹ (0,6 log) | 2,9 x 10 ¹ (1,46 log) | 4,9 x 10 ¹ (1,69 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 3,3 x 10 ¹ (1,52 log) | 1,43 |
| | | Coliformes totais | 3,0 x 10 ¹ (0,48 log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | 2,1 x 10 ² (2,32 log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | 3,78 |
| | | <i>E. coli</i> | 1,3 x 10 ¹ | 1,2 x 10 ¹ | 1,9 x 10 ¹ | 0,9 x 10 ¹ | 2,1 x 10 ¹ | 1,17 |
| | 2 ^a Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,2 x 10 ² (2,08 log) | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 2,8 x 10 ² (2,45 log) | 3,4 x 10 ² (2,53 log) | 4,8 x 10 ² (2,68 log) | 2,41 |
| | | Coliformes totais | 1,3 x 10 ² (2,11 log) | 8,0 x 10 ¹ (1,90 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,6 x 10 ² (2,41 log) | 2,71 |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3 |
| | | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,2 x 10 ² (2,08 log) | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 2,8 x 10 ² (2,45 log) | 3,4 x 10 ² (2,53 log) | 4,8 x 10 ² (2,68 log) | 2,41 |
| | | Coliformes totais | 1,3 x 10 ² (2,11 log) | 8,0 x 10 ¹ (1,90 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,6 x 10 ² (2,41 log) | 2,71 |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3 |
| 3 ^a Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,2 x 10 ² (2,08 log) | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 2,8 x 10 ² (2,45 log) | 3,4 x 10 ² (2,53 log) | 4,8 x 10 ² (2,68 log) | 2,41 | |
| | Coliformes totais | 1,3 x 10 ² (2,11 log) | 8,0 x 10 ¹ (1,90 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,6 x 10 ² (2,41 log) | 2,71 | |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3 |

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continuação)

| Etapa do processamento do tecnológico do abate | Coletas por Abate-douro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|--|--|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| Após a toailete manual | 1 ^a Coleta (A) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 3,5 x 10 ² (2,54 log) | NR* | 3,2 x 10 ¹ (1,50 log) | 4,2 x 10 ² (2,62 log) | 3,0 x 10 ² (2,48 log) | 2,44 |
| | | Coliformes totais | 1,4 x 10 ² (2,15 log) | 3,8 x 10 ¹ (1,58 log) | 3,6 x 10 ¹ (1,56 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | NR* | 1,77 |
| | | <i>E. coli</i> | 9,8 x 10 ¹ | 1,0 x 10 ¹ | 0,9 x 10 ¹ | 1,3 x 10 ¹ | NR* | 1,51 |
| | 2 ^a Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 7,7 x 10 ¹ (1,89 log) | 4,0 x 10 ¹ (1,6 log) | 2,8 x 10 ¹ (1,45 log) | 0,4 x 10 ¹ (0,6 log) | 2,9 x 10 ² (2,46 log) | 1,94 |
| | | Coliformes totais | > 10 ⁶ (est) (6log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | > 10 ⁴ (est) (4log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | 5,61 |
| | | <i>E. coli</i> | 2,9 x 10 ¹ | 3,0 x 10 ¹ | 1,5 x 10 ¹ | 1,1 x 10 ¹ | > 10 ⁴ (est) | 1,57 |
| | 3 ^a Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 2,4 x 10 ² (2,38 log) | 1,2 x 10 ² (2,08 log) | NC** (0,001 -3 log) | 0,5 x 10 ¹ (0,7 log) | NC** (0,001 -3 log) | 1,86 |
| | | Coliformes totais | 4,0 x 10 ¹ (1,60 log) | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 4,0 x 10 ¹ (1,60 log) | NC** (-3,0 log) | NC** (-3,0 log) | 1,45 |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | 2,0 x 10 ¹ | NC** | NC** | 0,6 |

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continuação)

| Etapa do processamento do abate | Coletas por Abatedouro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|---------------------------------|---|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| Antes da evisceração | 1ª Coleta (A) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 4,3 x 10 ² (2,63 log) | 2,3 x 10 ² (2,36 log) | 2,5 x 10 ² (2,4 log) | 5,0 x 10 ¹ (1,7 log) | 2,7 x 10 ² (2,43 log) | 2,39 |
| | | Coliformes totais | 2,2 x 10 ² (2,34 log) | 4,0 x 10 ¹ (1,60 log) | 2,4 x 10 ¹ (1,38 log) | 4,7 x 10 ¹ (1,67 log) | 2,9 x 10 ¹ (1,46 log) | 1,86 |
| | | <i>E. coli</i> | 1,7 x 10 ² | 2,4 x 10 ¹ | NC** | 2,7 x 10 ¹ | 0,9 x 10 ¹ | 1,66 |
| | 2ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 2,7 x 10 ¹ (1,43 log) | 3,9 x 10 ¹ (1,59 log) | 3,6 x 10 ¹ (1,56 log) | 0,7 x 10 ¹ (0,84 log) | 6,6 x 10 ¹ (1,82 log) | 1,54 |
| | | Coliformes totais | > 10 ⁴ (est) (4log) | > 10 ⁴ (est) (4log) | > 10 ⁴ (est) (4log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | > 10 ⁴ (est) (4 log) | 4,0 |
| | | <i>E. coli</i> | 1,1 x 10 ¹ | 1,3 x 10 ¹ | 1,4 x 10 ¹ | 0,7 x 10 ¹ | 0,8 x 10 ¹ | 1,03 |
| | 3ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,3 log) | 0,1 x 10 ¹ (0 log) | NC** (0,001 -3 log) | NC** (0,001 -3 log) | 1,21 |
| | | Coliformes totais | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | NC** | NC** | NC** | NC** | 0,6 |
| | | <i>E. coli</i> | 2,0 x 10 ¹ | NC** | NC** | NC** | NC** | 0,6 |

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continuação)

| Etapa do processamento do tecnológico do abate | Coletas por Abatedouro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|--|---|---------------------------|--|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| Após a evisceração | 1ª Coleta (A) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 6,2 x 10 ¹ (1,79 log) | 2,8 x 10 ¹ (1,45 log) | 4,4 x 10 ² (2,64 log) | 5,4 x 10 ¹ (1,73 log) | 2,2 x 10 ² (2,34 log) | 2,21 |
| | | Coliformes totais | 3,9 x 10 ² (2,59 log) | 7,3 x 10 ¹ (1,78 log) | 4,7 x 10 ¹ (1,67 log) | NR* | 8,4 x 10 ¹ (1,92 log) | 2,17 |
| | | <i>E. coli</i> | 3,4 x 10 ² | 3,8 x 10 ¹ | 2,9 x 10 ¹ | NR* | 2,9 x 10 ¹ | 2,04 |
| | 2ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,0 x 10 ³ (est.) (3,0 log) | 1,7 x 10 ² (2,23 log) | 3,1 x 10 ² (2,49 log) | 1,3 x 10 ³ (3,11 log) | 1,3 x 10 ³ (est.) (3,11 log) | 2,91 |
| | | Coliformes totais | > 10 ⁶ (est) (6log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | > 10 ⁶ (est) (6log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | 6,0 |
| | | <i>E. coli</i> | > 10 ⁶ (est) | > 10 ⁶ (est) | > 10 ⁶ (est) | > 10 ⁶ (est) | > 10 ⁶ (est) | 6,0 |
| | 3ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,2 x 10 ² (2,08 log) | 8,0 x 10 ² (2,9 log) | 3,6 x 10 ¹ (1,56 log) | 1,4 x 10 ² (2,15 log) | 0,4 x 10 ¹ (0,6 log) | 2,34 |
| | | Coliformes totais | 6,0 x 10 ¹ (1,78 log) | 2,2 x 10 ² (2,34 log) | 1,8 x 10 ² (2,26 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,0 x 10 ¹ (1,30 log) | 2,0 |
| | | <i>E. coli</i> | 2,0 x 10 ¹ | 6,0 x 10 ¹ | NC** | NC** | NC** | 1,20 |

Tabela 2. Resultados das contagens de *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *Escherichia coli* nas diferentes partes/pontos da carcaça de suínos e nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate de suínos, em UFC/cm², nos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal. (continuação)

| Etapa do processamento do tecnológico do abate | Coletas por Abatedouro frigorífico A ou B | Microrganismo | Parte/ ponto da Carcaça | | | | | Média geral da carcaça (log UFC/cm ²) |
|--|---|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|---|
| | | | 1 Pernil | 2 Lombo | 3 Axila | 4 Barriga | 5 Papada | |
| 1ª Coleta (A) | | <i>Enterobacteriaceae</i> | 1,1 x 10 ² (2,04 log) | 5,1 x 10 ¹ (1,71 log) | 3,3 x 10 ¹ (1,52 log) | 3,2 x 10 ¹ (1,50 log) | 1,8 x 10 ¹ (1,26 log) | 1,69 |
| | | Coliformes totais | 4,9 x 10 ¹ (1,69 log) | 1,2 x 10 ² (2,09 log) | 9,1 x 10 ¹ (1,96 log) | 2,2 x 10 ¹ (1,34 log) | 9,1 x 10 ¹ (1,96 log) | 1,88 |
| | | <i>E. coli</i> | 3,3 x 10 ¹ | 8,7 x 10 ¹ | 4,4 x 10 ¹ | 0,2 x 10 ¹ | 4,0 x 10 ¹ | 1,61 |
| Após a lavagem antes da entrada na câmara fria | 2ª Coleta (B) | <i>Enterobacteriaceae</i> | 7,5 x 10 ¹ (1,87 log) | 7,2 x 10 ¹ (1,86 log) | 1,0 x 10 ² (est.) (2,0 log) | 1,5 x 10 ² (est.) (2,17 log) | 1,5 x 10 ² (est.) (2,17 log) | 2,04 |
| | | Coliformes totais | > 10 ⁶ (est) (6log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | > 10 ⁶ (est) (6 log) | 6,0 |
| | | <i>E. coli</i> | > 10 ⁴ (est) | > 10 ⁴ (est) | > 10 ⁴ (est) | > 10 ⁴ (est) | > 10 ⁴ (est) | 4,0 |
| 3ª Coleta (B) | | <i>Enterobacteriaceae</i> | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3*** |
| | | Coliformes totais | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3*** |
| | | <i>E. coli</i> | NC** | NC** | NC** | NC** | NC** | -3*** |

(*) NR – Amostra inutilizada

(**) NC – Não houve crescimento

(***) Em razão do não crescimento, adotou-se o valor 0,001 para a conversão em log₁₀.

(est) Valor estimado em razão de serem incontáveis ou haver aglomerações no meio de cultura.

5.1.1 *Enterobacteriaceae*

Nas Figuras 1, 3 e 5, encontram-se os resultados obtidos das contagens de *Enterobacteriaceae* em UFC/cm², e nas Figuras 2, 4 e 6, estes mesmos resultados convertidos em log UFC/cm², por partes da carcaça de suíno, dos abatedouros frigoríficos A e B, por coleta e por cada etapa do processamento tecnológico do abate.

Figura 1. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça

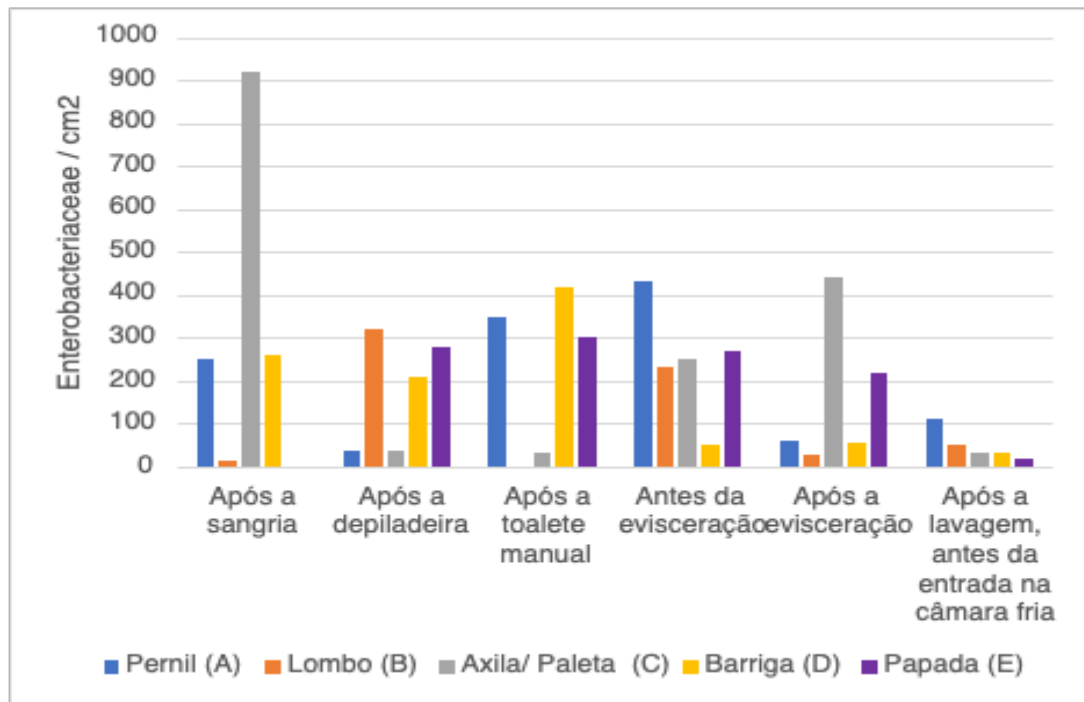


Figura 2. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/ cm².

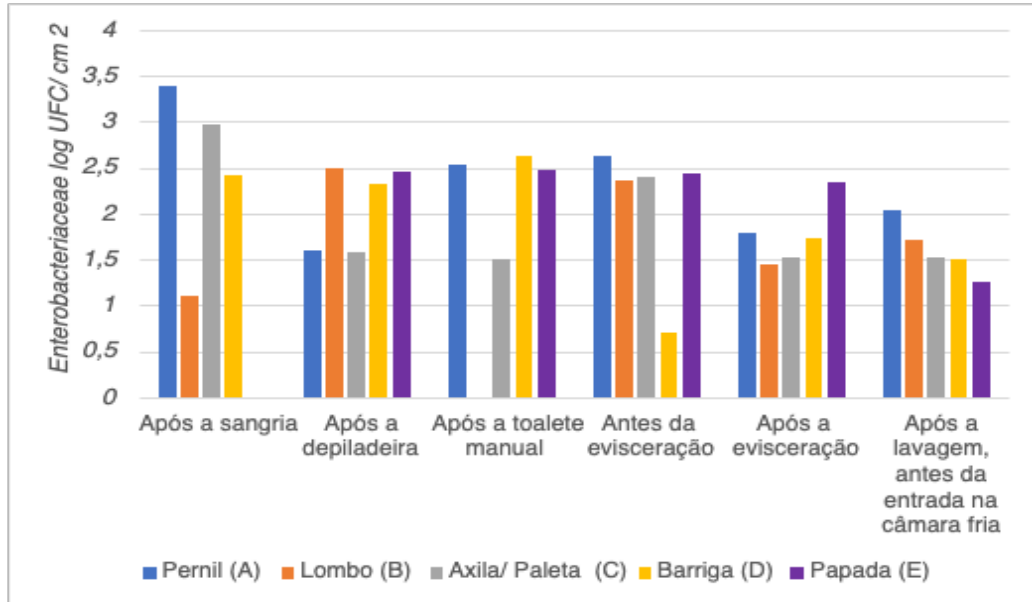


Figura 3. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

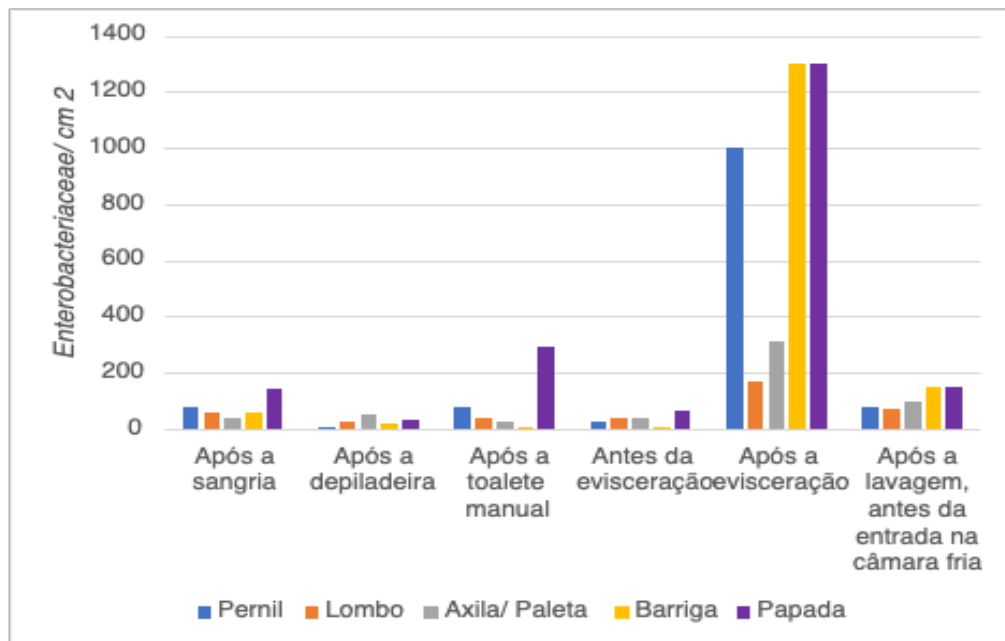


Figura 4. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm².

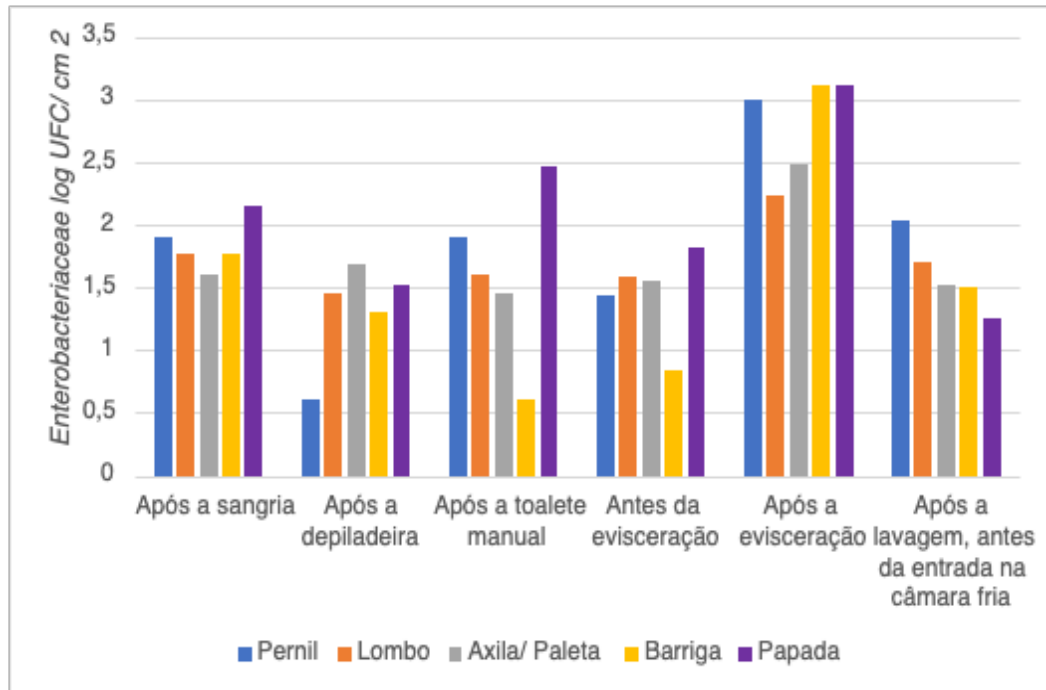


Figura 5. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

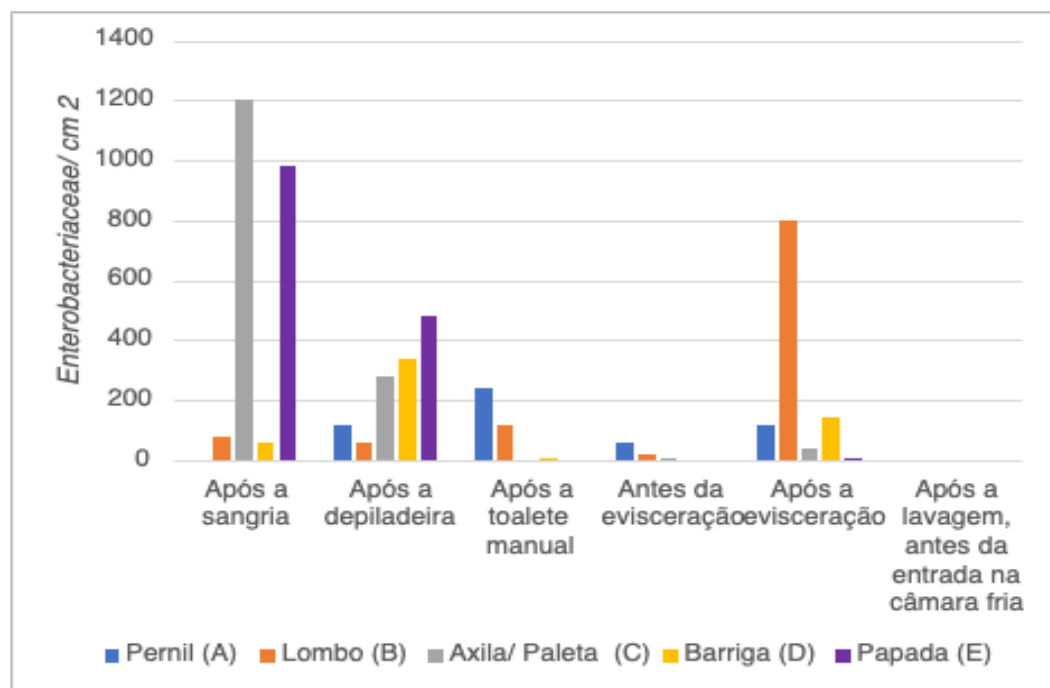
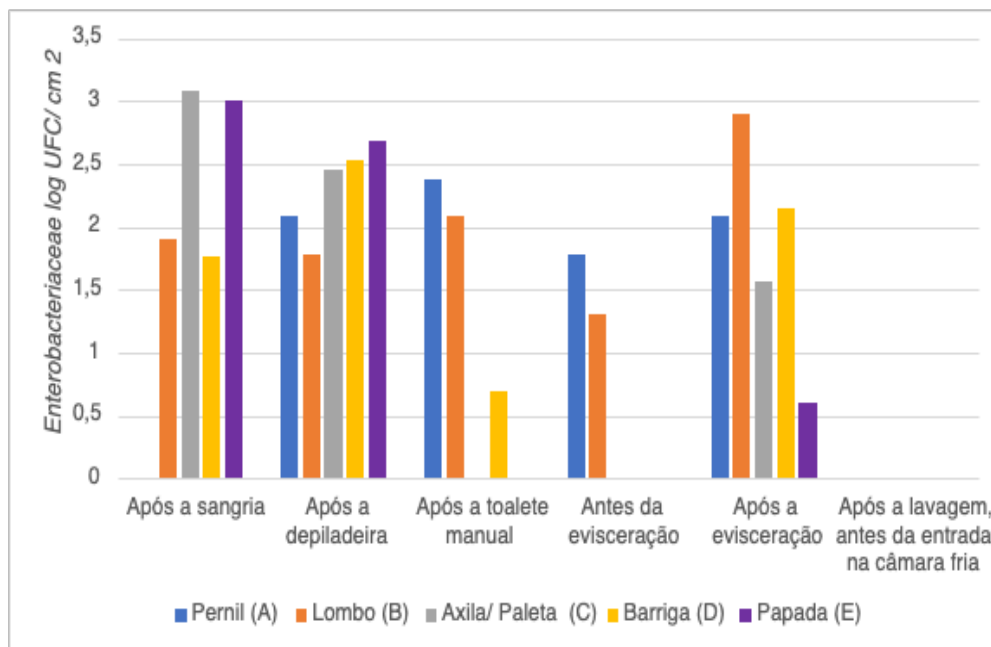


Figura 6. Contagem de *Enterobacteriaceae* na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm².



De uma maneira geral, não existem muitos trabalhos no Brasil que realizaram a contagem de *Enterobacteriaceae* em carcaças de suínos por local/ponto na carcaça, sendo este o primeiro na região do Distrito Federal, levando-se em consideração que o parâmetro para esta contagem foi instituído no Brasil em 2018 (BRASIL, 2018), sendo recente no país, o que por sua vez justifica a ausência de trabalhos relacionados. As Figuras de 1 a 6 e a Figura 7 evidenciam um perfil similar para os abatedouros frigoríficos A (1ª coleta) e B (2ª coleta), com picos nas etapas após a sangria e após a evisceração, corroborando os trabalhos de avaliação de qualidade higiênica de carcaças de suínos, na Irlanda, realizados por Wheatley *et al.* (2014), os quais descreveram maior contaminação na papada e na barriga após a evisceração, e menor contaminação no pernil.

Verificou-se uma maior contaminação após a toailete manual na barriga e papada do abatedouro frigorífico A (1ª coleta), na papada no B (1ª coleta) e no pernil e no lombo em B, na segunda coleta.

A média logarítmica geral da carcaça para *Enterobacteriaceae*, que foi obtida do somatório de todos os pontos/partes da carcaça dos suínos dos resultados logarítmicos, obtidos neste estudo na etapa de antes da escaldagem, para o abatedouro frigorífico A (1ª coleta), foi de 2,56 log UFC/cm² e B o valor de 1,88 log UFC/cm² (1ª coleta) e 2,67 log UFC/cm² (2ª coleta), Tabela 3 e Figura 7. Esses resultados foram menores que o valor médio da carcaça de

suínos de 3,5 log UFC/cm² obtido por Corbellini *et al.* (2016), em estudo realizado com carcaças de suínos em abatedouros frigoríficos localizados na região sul do Brasil. Embora os resultados deste estudo tenham sido obtidos de uma única carcaça, para cada um dos abatedouros frigoríficos e para cada uma das coletas realizadas, esses resultados foram próximos aos verificados por Montes *et al.* (2019) em carcaças de suínos oriundos da região oeste de Santa Catarina, Brasil, no qual os autores verificaram o valor de 2,37 log UFC/cm² nas etapas de sangria e escaldagem. Os resultados na etapa de sangria também foram maiores neste estudo, com os valores médios de toda a carcaça de 2,56 log UFC/cm² (A 1ª coleta), 1,88 log UFC/cm² (B 1ª coleta) e 2,67 log UFC/cm² (B 2ª coleta), do que o valor máximo de 1,83 log UFC/cm², obtido por Cê (2016), em carcaças de suínos de abatedouros frigoríficos localizados na região de Santa Catarina, Brasil.

Diferentemente dos resultados de outros trabalhos que descrevem uma recontaminação das carcaças na etapa da depilação, em razão da dificuldade de higienização do equipamento e da contaminação fecal (SPESCHA; STEPHAN e ZWEIFEL, 2006; WARRINER *et al.*, 2002; WHEATLEY *et al.*, 2014), neste estudo não houve aumento na contagem logarítmica de *Enterobacteriaceae* após a etapa de depilação nas três coletas analisadas dos abatedouros frigoríficos A e B. Comparando-se as etapas de antes da escaldagem (sangria) e após a depilação (após a escaldagem), houve redução de 0,31 log UFC/cm² na 1ª coleta do abatedouro frigorífico A, 0,45 log UFC/cm² na 1ª coleta do abatedouro frigorífico B e 0,26 log UFC/cm² na 2ª coleta do abatedouro frigorífico B. A redução na contagem de *Enterobacteriaceae* após a depilação, observada nas Figuras de 1 a 6, pode ser explicada pelo processo de escaldagem seguida pela etapa de depilação e ausência de recontaminação na depiladeira. Dessa forma, estes resultados corroboram os resultados de Spescha Stephan e Zweifel (2006), Wheatley *et al.* (2014), Nastasijevic *et al.* (2018), que demonstraram que a ação de escaldagem de carcaças de suínos reduz a contaminação bacteriana.

Em ambos os abatedouros frigoríficos A e B, a toailete na área suja, conforme classificação dada pela Portaria nº 711 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 1995, é realizada manualmente sobre uma mesa, sob a qual ficam com os pelos, e com muita umidade, o que pode ter contribuído para o aumento da contagem desse microrganismo nessa etapa, além do uso de facas para realizar a toailete das carcaças, retirando os pelos restantes após a ação da depiladeira. Comparando os resultados logarítmicos da média geral da carcaça (Tabela 3) da etapa da toailete manual, das primeiras coletas dos abatedouros frigoríficos A e B, de 2,44 log UFC/cm² e 1,94 log UFC/cm², respectivamente, e na 2ª coleta do abatedouro frigorífico B, 1,86 log UFC/cm², com a etapa anterior, da depilação, observa-se que houve

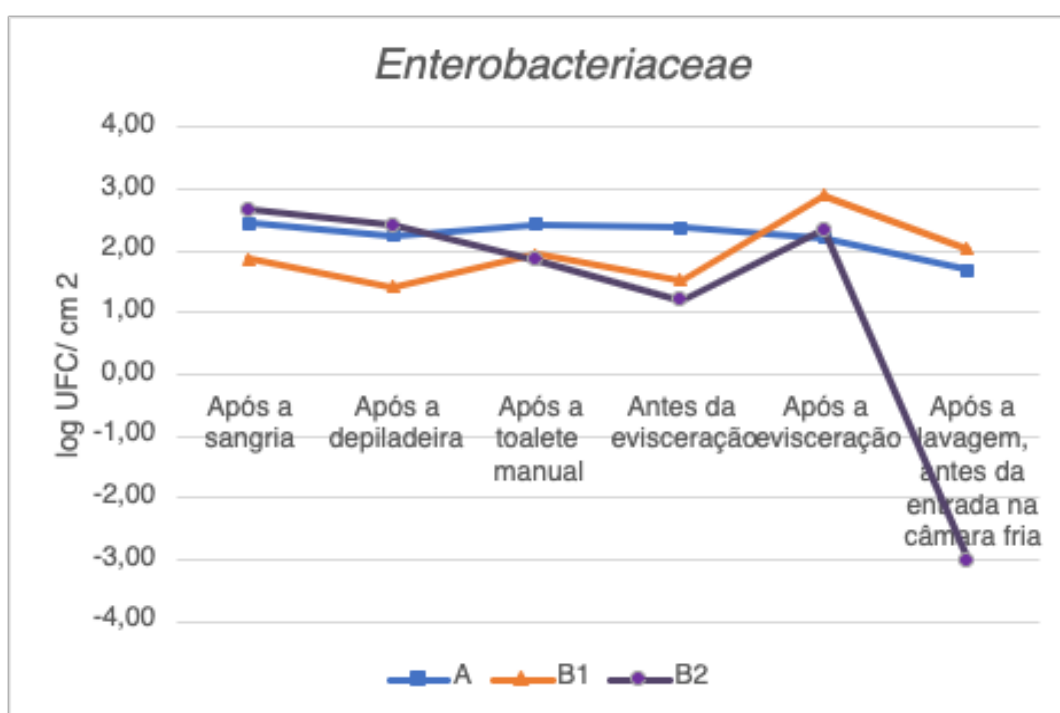
aumento nas contagens neste estudo. Comparando-se a etapa da toaleta manual deste estudo com a etapa da toaleta mecanizada, na área suja, pode-se afirmar que os resultados estão alinhados aos verificados por Corbellini *et al.* (2016), que observaram um aumento médio de 1,7 log UFC/cm² quando comparado às etapas anteriores, após a depilação, na qual reduziu-se consideravelmente a contagem, o chamuscamento, em que houve redução novamente, e a toaleta ainda na área suja, na qual voltou a subir a contagem logarítmica. Também Zwirzitz *et al.* (2020) não identificaram o microrganismo na etapa anterior e o identificaram na etapa da toaleta na área suja. Entretanto, os resultados deste estudo diferem dos resultados obtidos por Cê (2016) e Rodrigues *et al.*, (2021) que não detectaram, ou detectaram contagens menores na etapa da toaleta na área suja aos observados neste estudo, que foram de 2,44 log UFC/cm² (A 1ª coleta), 1,94 log UFC/cm² (B 1ª coleta) e 1,86 log UFC/cm² (B 2ª coleta), na etapa de toaleta manual. Assim como as facas utilizadas pelos manipuladores nessa etapa, as quais passam em áreas próximas à boca e ao ânus, o equipamento mecanizado não possui *design* higiênico que permita sua higienização durante e após o abate (BUNCIC & SOFOS, 2012; WHEATLEY, 2014), justificando, dessa forma, uma maior contagem devido à contaminação cruzada.

Avaliando-se os resultados logarítmicos gerais das carcaças (Tabela 3) deste estudo, da etapa antes da evisceração e os resultados da etapa após a evisceração, no abatedouro frigorífico B, pode-se verificar um aumento superior a 1 log UFC/cm² nas duas coletas realizadas (2,91 log UFC/cm² da 1ª coleta e 2,34 log UFC/cm² da 2ª coleta).

Em relação aos resultados por ponto/local na carcaça, na etapa após a evisceração, a axila ($4,4 \times 10^2$ UFC/cm²) apresentou a maior contagem de *Enterobacteriaceae* no abatedouro frigorífico A na 1ª coleta. No abatedouro frigorífico B na 1ª coleta, a barriga e a papada apresentaram a contagem de $1,3 \times 10^3$ UFC/cm², para ambas, sendo as maiores contagens obtidas, e na 2ª coleta no abatedouro frigorífico B o ponto/local de maior contagem observado foi o lombo, com o valor de $8,0 \times 10^2$ UFC/cm². Wheatley *et al.* (2014) verificaram aumentos significativos da contagem na papada e na barriga, na etapa após a evisceração tal qual se verifica neste estudo. De acordo com esses autores, a evisceração é frequentemente reportada como a etapa de maior fonte de contaminação no abate de suínos, uma vez que mesmo animais saudáveis podem ser carreadores de microrganismos patogênicos e oportunistas, devido à alteração da permeabilidade da parede intestinal em decorrência do estresse durante o abate, podendo estes microrganismos penetrarem outros tecidos, uma vez que o manipulador pode ser o veículo de transmissão para outras áreas, levando ao aumento das contagens (VELEBIT *et al.*, 2021), justificando dessa forma os resultados verificados nesta etapa deste estudo.

A Instrução Normativa do MAPA nº 60, de 20 de dezembro de 2018, estabelece padrões de contagem microbiológica de *Enterobacteriaceae* para as carcaças suínas antes do resfriamento como aceitável ($< 2,0 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$), intermediário (entre $2,0 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$ e $3,0 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$) e inaceitável ($> 3,0 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$), de acordo com a contagem $\log \text{UFC}/\text{cm}^2$. Neste estudo, observou-se que as carcaças do abatedouro frigorífico A da 1ª coleta e as do B da 2ª coleta podem ser classificadas como aceitáveis na etapa após a lavagem e antes do resfriamento, por apresentarem contagens logarítmicas abaixo de $2,0 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$. Já a carcaça da 1ª coleta do abatedouro frigorífico B classifica-se como intermediária por apresentar contagem logarítmica de $2,04 \log \text{UFC}/\text{cm}^2$, estando, dessa forma, dentro dos parâmetros estipulados pela Instrução Normativa.

Figura 7. Média geral da contagem de *Enterobacteriaceae* em $\log \text{UFC}/\text{cm}^2$ nas carcaças de suínos dos abatedouros frigoríficos A (1ª coleta) e B (1ª e 2ª coletas) ao longo das etapas do processo tecnológico de abate.



5.1.2 *Escherichia coli*

Nas Figuras 8, 10 e 12, encontram-se os resultados obtidos das contagens de *Escherichia coli*, em UFC/cm^2 , por pontos/partes da carcaça de suíno, e as Figuras 9, 11 e 13 apresentam os mesmos resultados convertidos em valores logarítmicos, expressos em $\log \text{UFC}/\text{cm}^2$, dos

abatedouros frigoríficos A e B, por coleta e por cada etapa do processamento tecnológico do abate.

Figura 8. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

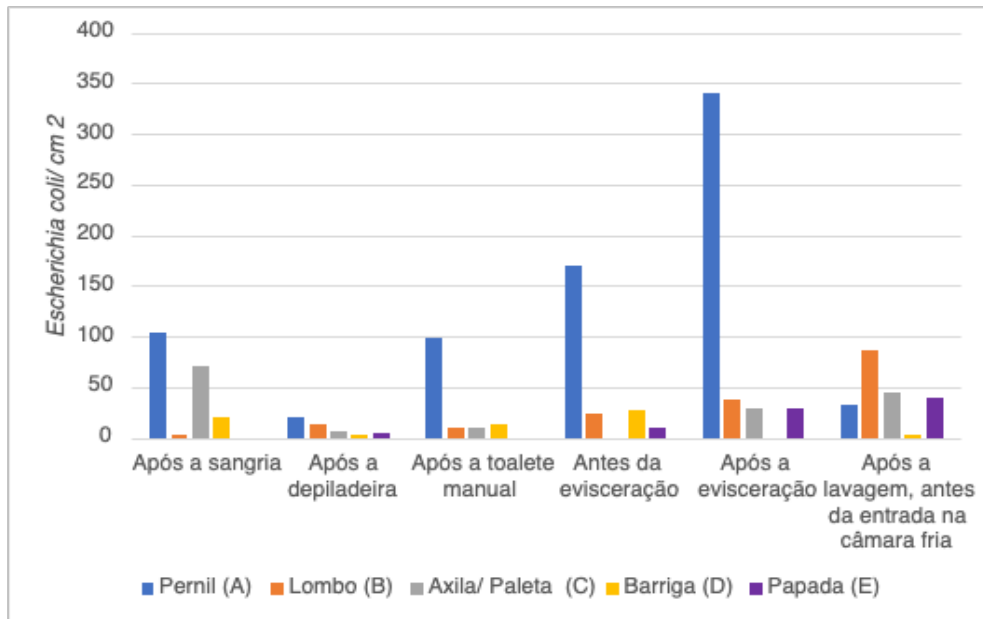


Figura 9. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm².

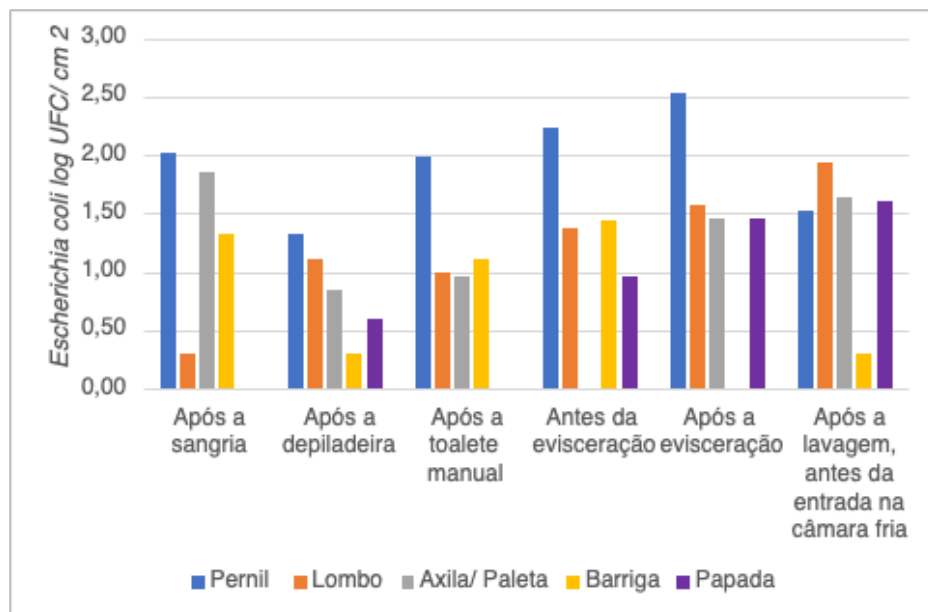


Figura 10. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

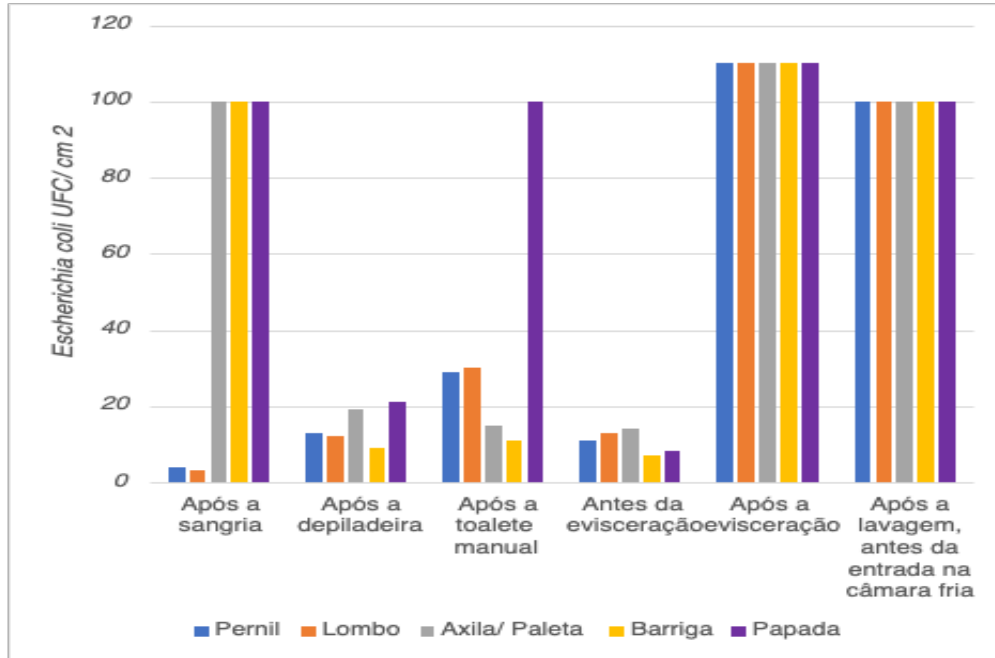


Figura 11. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/cm².

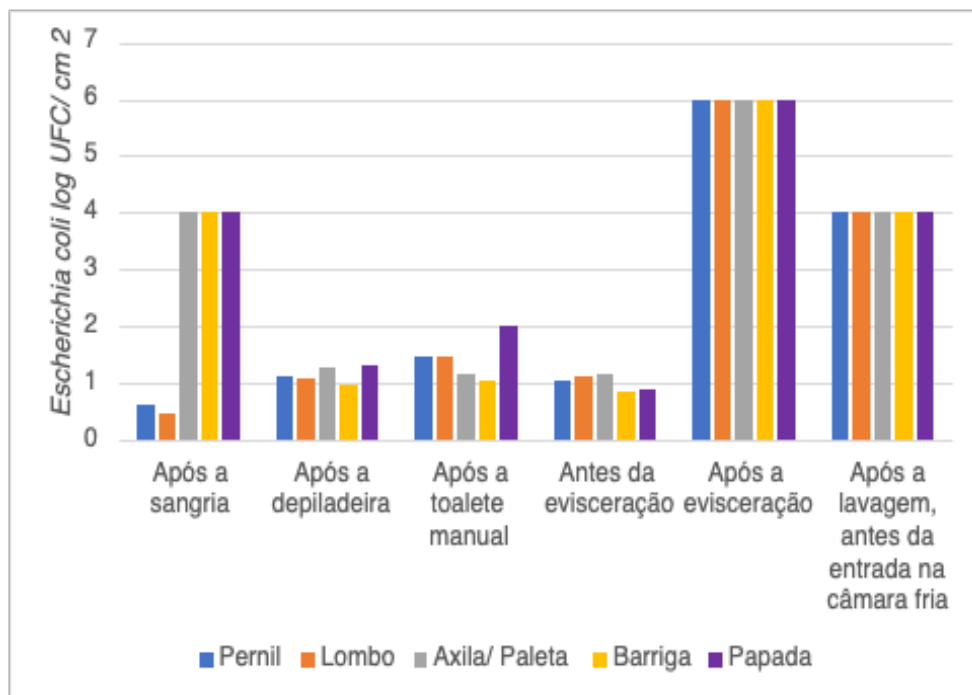


Figura 12. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

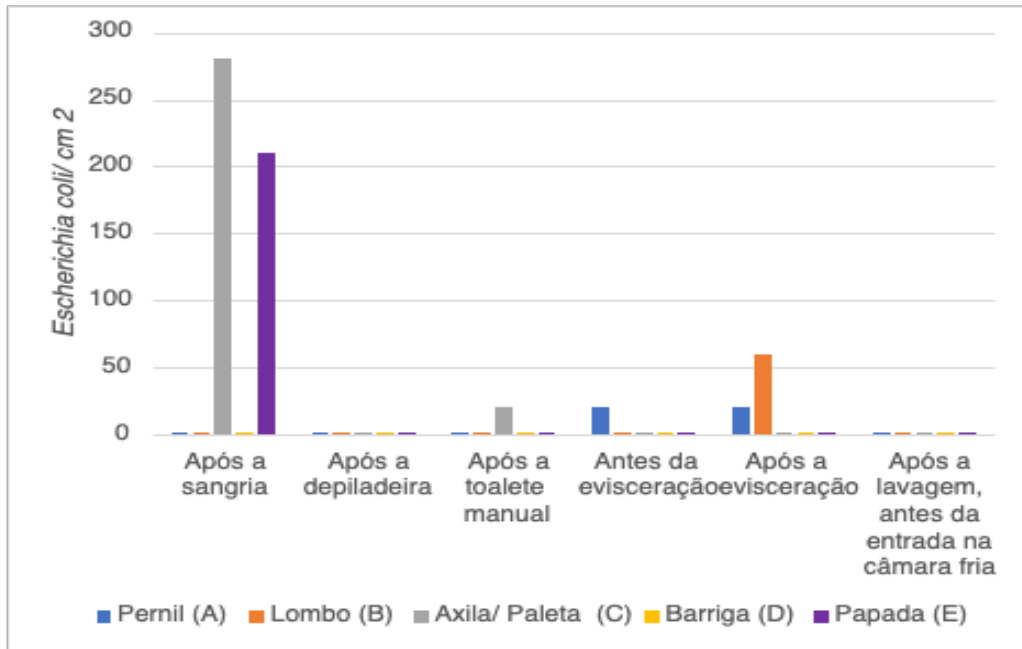


Figura 13. Contagem de *Escherichia coli* na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, em log UFC/ cm².

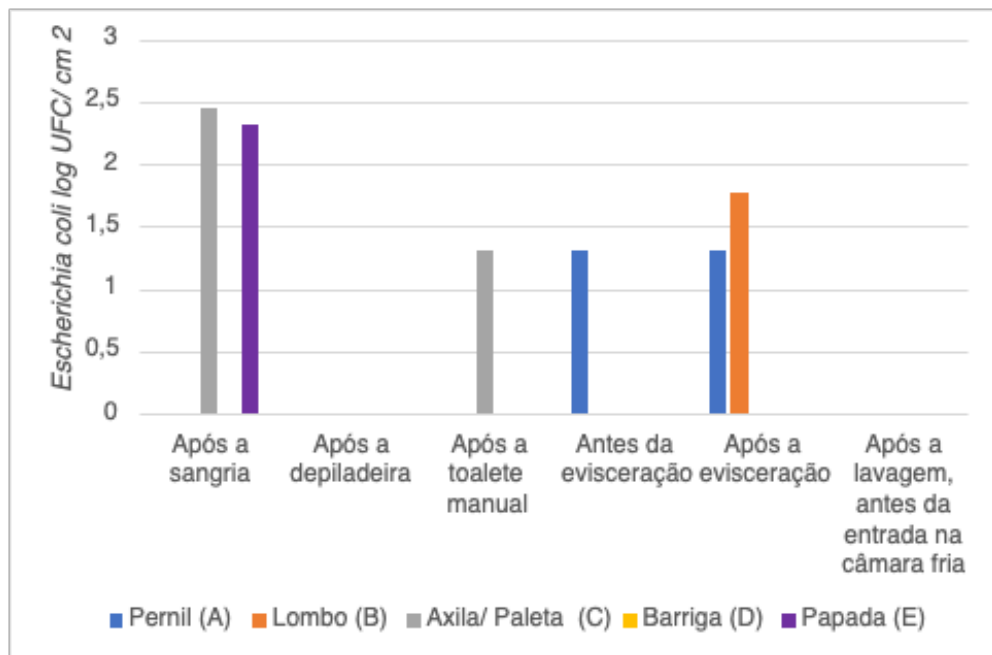
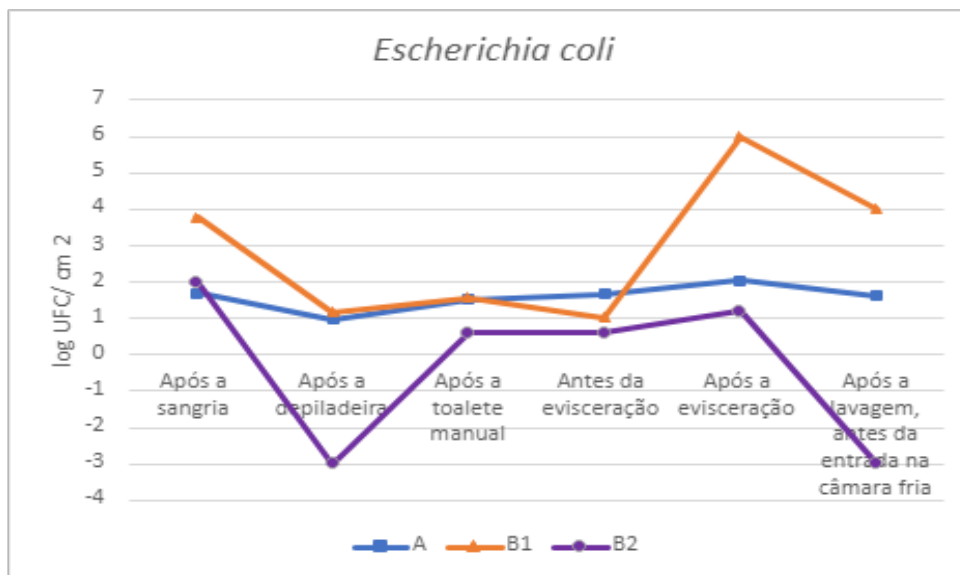


Figura 14. Média geral da contagem de *Escherichia coli* em log UFC/ cm² nas carcaças de suínos dos abatedouros frigorífico A (1^a coleta) e B (1^a e 2^a coleta) ao longo das etapas do processo tecnológico do abate.



De acordo com Ghafir *et al.* (2008), as contagens de *Escherichia coli* e de *Enterobacteriaceae* normalmente estão correlacionadas e são utilizadas em abatedouros tanto como indicadores de contaminação ambiental quanto fecal, e ambas aparecem ao longo do processamento tecnológico do abate neste estudo, indicando essas possíveis contaminações.

Neste estudo, similarmente aos resultados obtidos de *Enterobacteriaceae*, as contagens de *Escherichia coli* também apresentaram maiores nas etapas de pós-sangria, com contagem média geral da carcaça de 1,69 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico A na 1^a coleta, de 3,78 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico B na 1^a coleta e com o valor de 1,99 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico B na 2^a coleta, e após a evisceração, com contagens médias de 2,04 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico A na 1^a coleta, de 6,0 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico B na 1^a coleta e de 1,2 log UFC/ cm² no abatedouro frigorífico B na 2^a coleta, podendo serem observados os picos com os respectivos valores na Figura 14. Essa Figura apresenta os resultados das médias de todos os pontos/locais das carcaças, por etapa e sequência do processamento tecnológico do abate, das três coletas nos abatedouros frigoríficos A e B, com os valores expressos em log UFC/cm².

Pode-se observar nas Figuras 8, 10 e 12 a redução das contagens de *Escherichia coli* após a etapa da depilação ao compará-la com as contagens da etapa anterior, ou seja, a etapa após a sangria. Isso pode ser associado à etapa da escaldagem, a qual possui o binômio tempo e temperatura associado à redução desses microrganismos, de acordo com diversos estudos

(NAMVAR e WARRINER, 2006; RIVAS; VIZCAINO e HERRERA, 2000; WARRINER *et al.*, 2002; WU *et al.*, 2009). Mesmo a amostra tendo sido obtida após a ação da depiladeira, etapa considerada de recontaminação pelos autores Bryant, Brereton e Gill (2003); Rivas; Vizcaino e Herrera (2000) e Spescha *et al.* (2006), neste estudo os resultados se mantiveram menores que os observados na etapa após a sangria. Corroborando os resultados de redução de contagem de *Escherichia coli* após a etapa de escaldagem observados neste estudo, Rivas; Vizcaino e Herrera (2000) também verificaram a redução nas contagens médias de *Escherichia coli* após a etapa da escaldagem, em que esses autores verificaram valores médios de contagens de $0,10 \pm 0,16 \log_{10}$ UFC/cm², em carcaças de suínos ibéricos, na Espanha.

Os pontos/locais na carcaça com maiores contagens para *Escherichia coli* foram a papada e a axila nas duas coletas no abatedouro frigorífico B, e ainda a barriga na 1ª coleta deste abatedouro. No abatedouro frigorífico A, o pernil apresentou a maior contagem, permanecendo assim nas etapas seguintes até a etapa de pós-evisceração. Os resultados obtidos neste estudo foram similares aos observados por Machado *et al.* (2014), que, em estudo de prevalência de *Escherichia coli* na superfície de carcaças de suínos na região Sul do Brasil, obtiveram maiores contagens desse microrganismo na papada.

De acordo com o estudo de Rivas; Vizcaino e Herrera (2000), a lavagem final, sob pressão, não reduziu as contagens de microrganismos na carcaça. Neste estudo, embora tenha sido realizado em uma única carcaça por coleta, em cada abatedouro frigorífico A e B, pode-se verificar na Figura 14 a redução da contaminação por *Escherichia coli* nas carcaças após a etapa de lavagem final quando comparada à etapa anterior do estudo, após a evisceração. Comparando-se os resultados dessas duas etapas, ocorreu a redução de 2,04 log UFC/ cm² na etapa após a evisceração para 1,61 log UFC/ cm² na etapa após a lavagem e antes do resfriamento no abatedouro frigorífico A, de 6,0 log UFC/ cm² para 4,0 log UFC/ cm² na 1ª coleta do abatedouro frigorífico B, e de 1,20 log UFC/ cm² para a não detecção na 2ª coleta do abatedouro frigorífico B. Mesmo não tendo sido realizada a dosagem do cloro residual na água de lavagem neste estudo, a legislação brasileira determina um valor de 0,2 a 2,0 ppm na água para considerá-la potável (BRASIL, 2021b). Sendo assim, a presença de cloro é uma possível justificativa para a redução microbiana superficial ou a ausência de crescimento após a lavagem das carcaças observada neste estudo, para esse microrganismo.

Os resultados de contagens de *Escherichia coli* na superfície de carcaças de suínos obtidos neste estudo não encontram embasamento na legislação brasileira, a qual não considera a contagem deste microrganismo em carcaças suínas como controle microbiológico. No Brasil, utiliza-se a contagem de *Enterobacteriaceae* e presença ou ausência de *Salmonella spp.*,

seguindo o modelo estabelecido pela União Europeia, a qual também realiza a contagem de colônias aeróbias para avaliar a higiene do processo produtivo de obtenção da carne, além dos microrganismos mencionados (BARCO *et al.*, 2015). No entanto, a contagem de *Escherichia coli* pode ser considerada um indicador de controle de qualidade, tendo em vista que os perfis verificados para esse microrganismo, apresentados nas figuras, foram similares aos de *Enterobacteriaceae*.

5.1.3 Coliformes totais

Nas Figuras 15, 17 e 19, encontram-se os resultados obtidos das contagens de Coliformes totais em UFC/cm², e nas Figuras 16, 18 e 20, esses mesmos resultados convertidos em log UFC/cm², por partes da carcaça de suíno, dos abatedouros frigoríficos A e B, por coleta e por cada etapa do processamento tecnológico do abate.

Diferentemente das contagens de *Enterobacteriaceae* e *Escherichia coli*, as contagens de Coliformes totais apresentaram perfis diferentes entre as coletas. De acordo com as Figuras 17, 18 e 21, pode-se depreender que as contagens de Coliformes totais foram maiores na 1ª coleta no abatedouro frigoríficos B quando comparadas às demais coletas. E ainda, de acordo com a Figura 21, pode-se verificar que as curvas apresentaram picos diferentes entre as coletas.

Figura 15. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

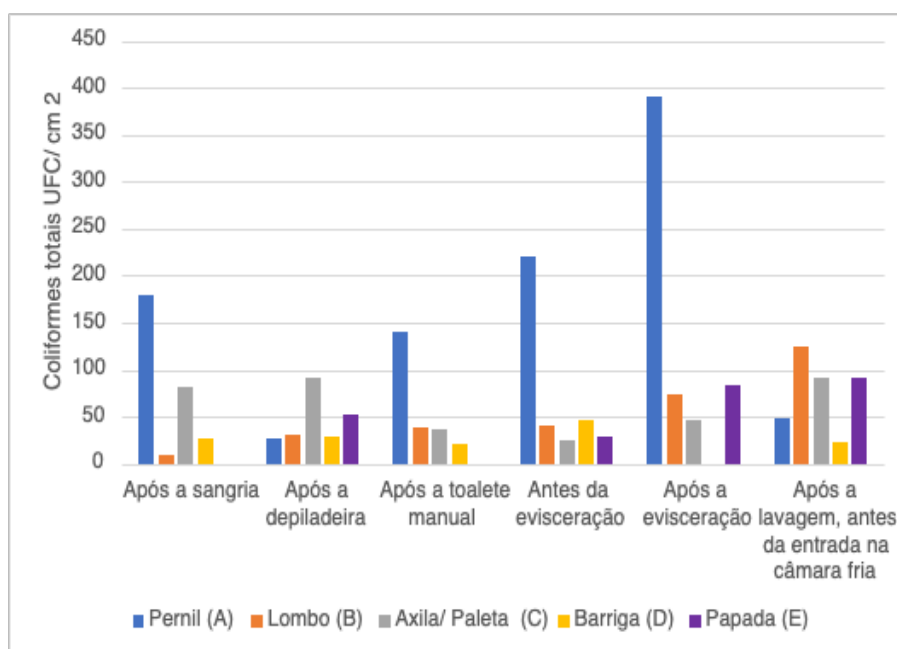


Figura 16. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico A, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, log UFC/ cm².

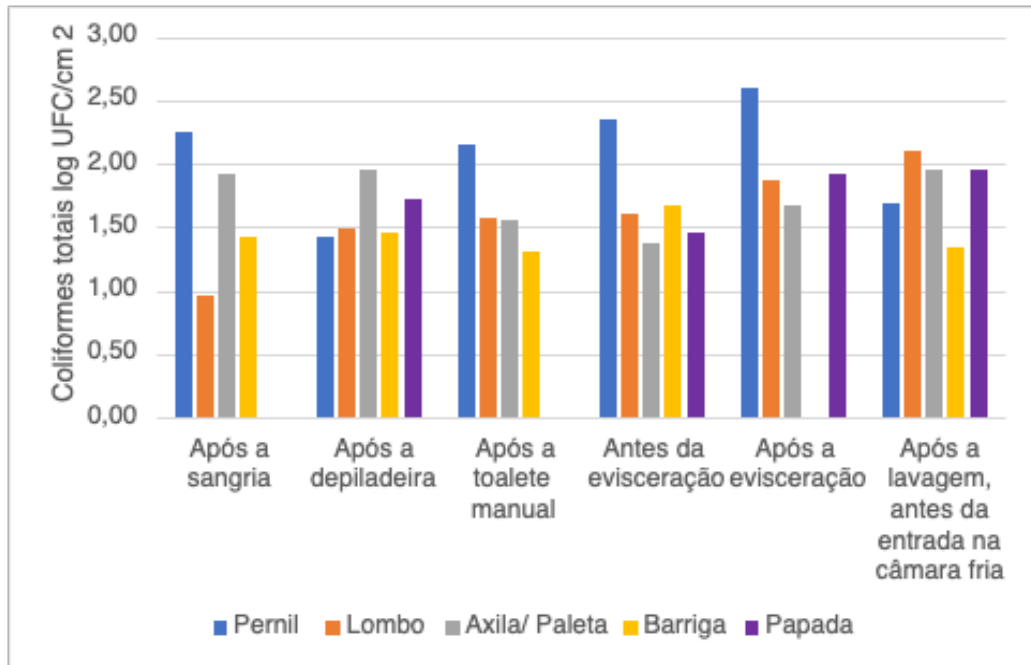


Figura 17. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

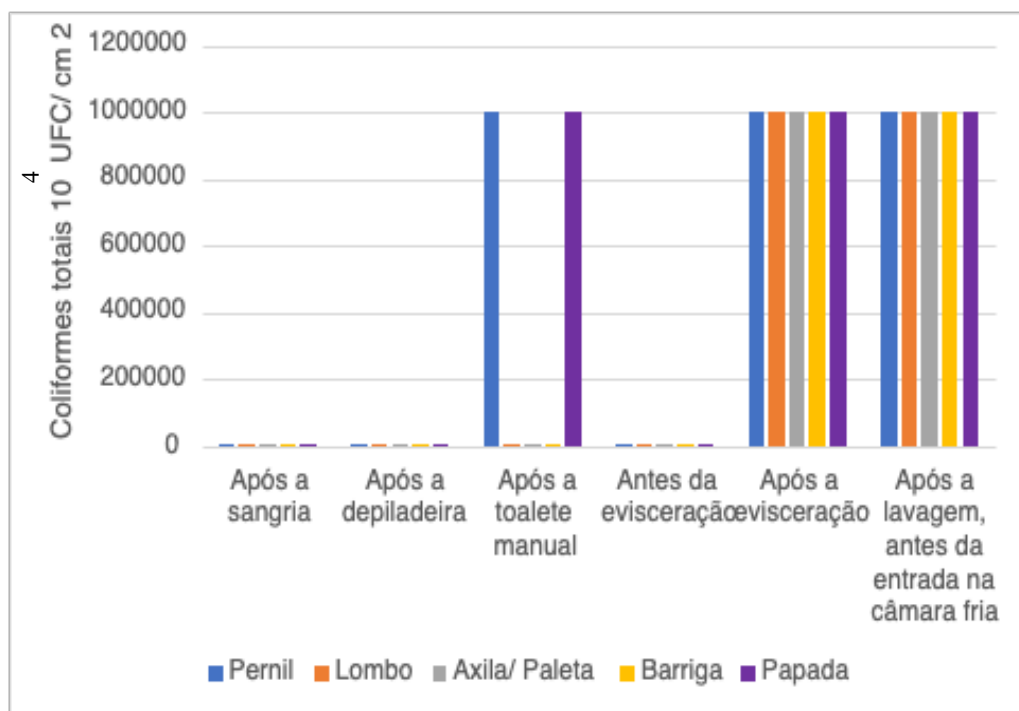


Figura 18. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 1ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, log UFC/ cm².

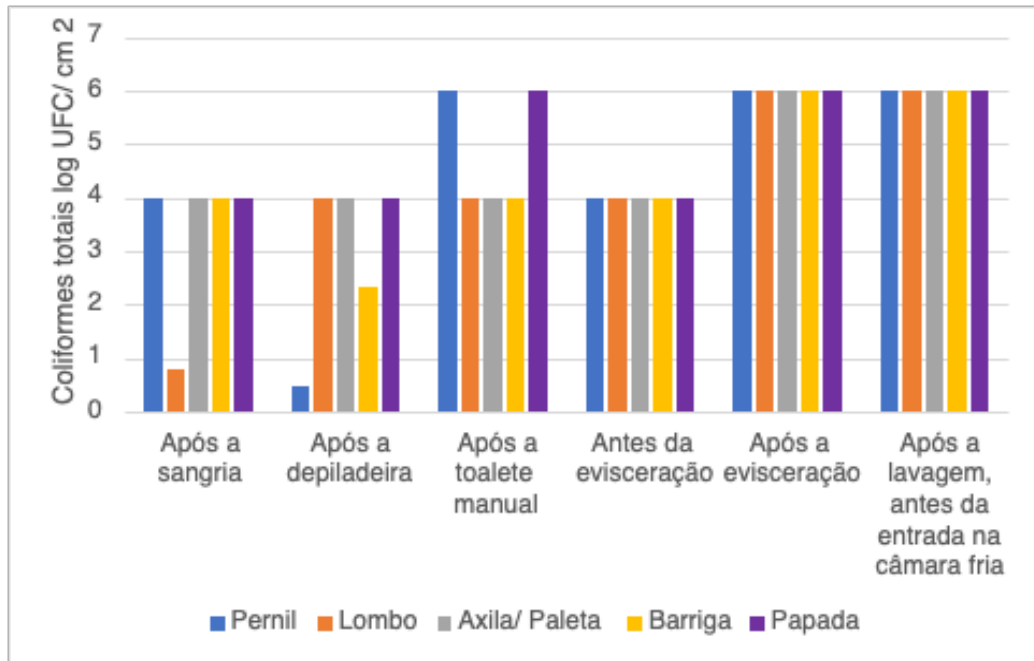


Figura 19. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça.

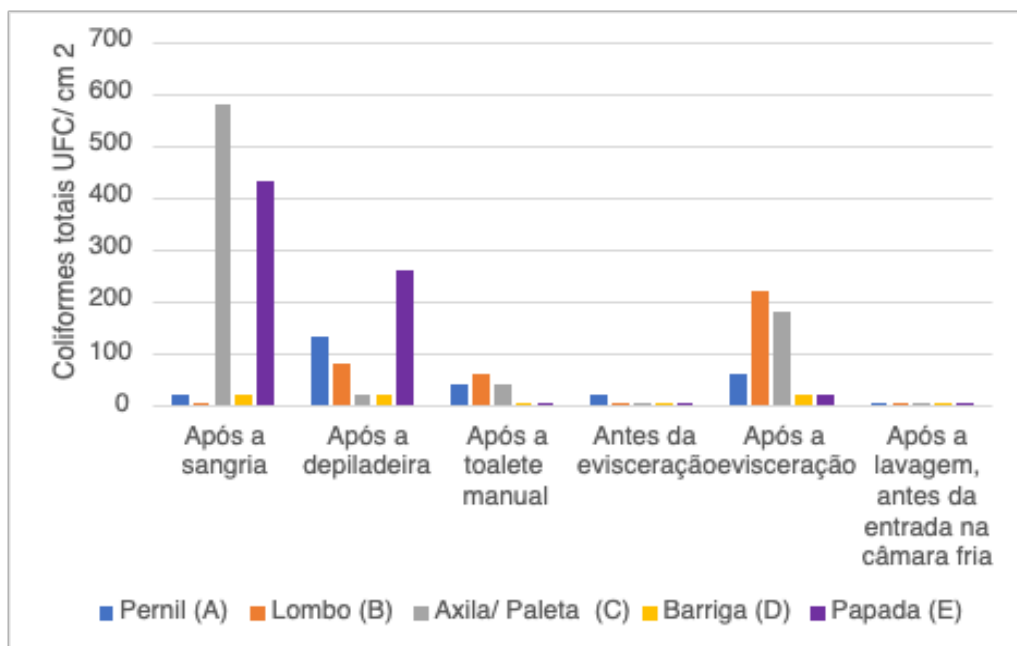


Figura 20. Contagem de Coliformes totais na carcaça de suíno da 2ª coleta realizada no abatedouro frigorífico B, por etapa do processamento tecnológico do abate de suínos e por local/ ponto na carcaça, log UFC/ cm².

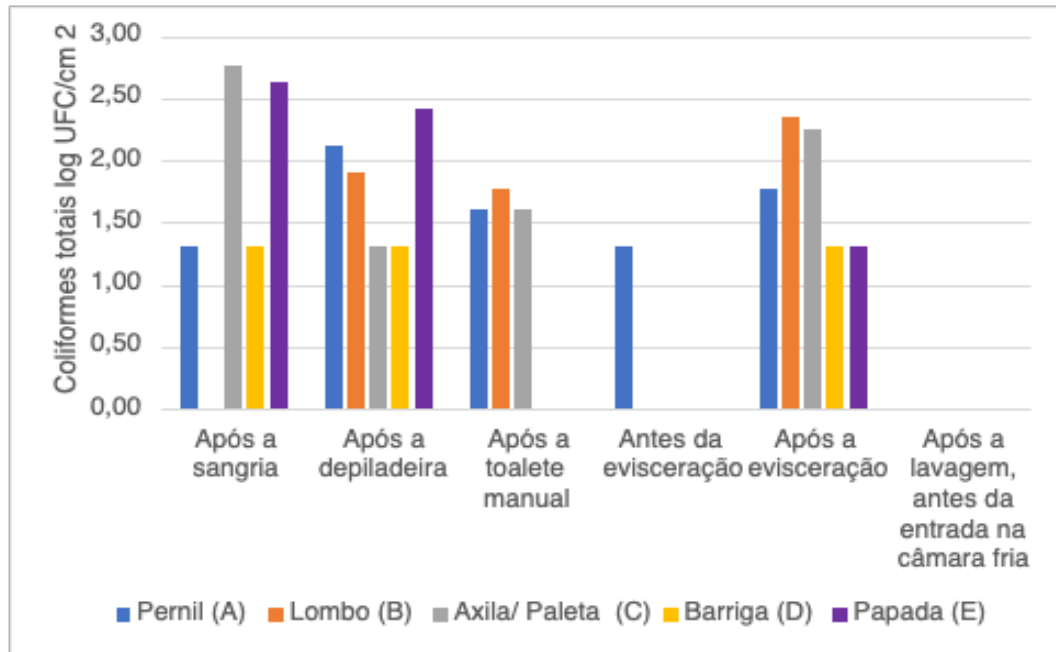
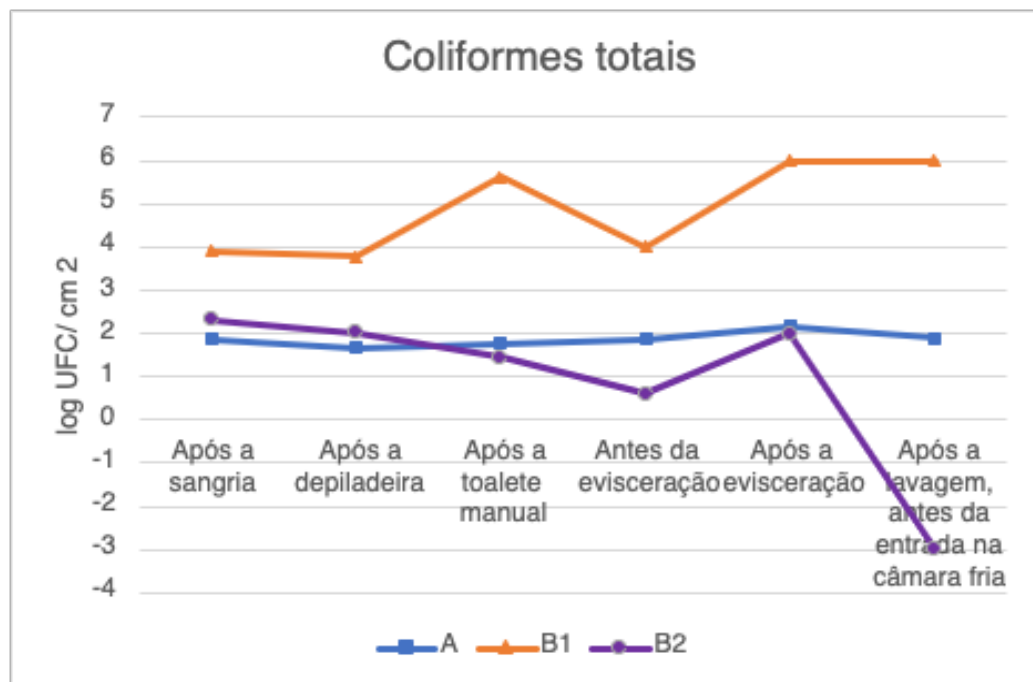


Figura 21. Média geral da contagem de Coliformes totais em log UFC/ cm² nas carcaças de suínos dos abatedouros frigorífico A (1ª coleta) e B (1ª e 2ª coleta) ao longo das etapas do processo tecnológico do abate.



Com relação à análise da média geral de coliformes totais (média das contagens das partes da carcaça de suínos para cada etapa do processamento tecnológico do abate) convertidos em valores logarítmicos ($\log \text{ UFC/cm}^2$), no abatedouro frigorífico A, na 1ª coleta, a curva é quase linear, com poucas variações entre os valores ($2,17 \log \text{ UFC/cm}^2$) e o valor ($1,66 \log \text{ UFC/cm}^2$). Comparando-se a etapa após a sangria com a etapa após a depilação, houve redução na contagem logarítmica média das carcaças de $1,87 \log \text{ UFC/cm}^2$ para $1,66 \log \text{ UFC/cm}^2$, com posterior crescimento na etapa após a toailete manual, de $1,77 \log \text{ UFC/cm}^2$, até o pico na etapa após a evisceração com valor de $2,17 \log \text{ UFC/cm}^2$. E, novamente reduzindo a contagem, para $1,88 \log \text{ UFC/cm}^2$ após a lavagem final, etapa anterior ao resfriamento. No entanto, a contagem logarítmica média final desta última etapa foi praticamente a mesma da contagem inicial, da etapa após a sangria ($1,87 \log \text{ UFC/cm}^2$). Como anteriormente citado, a etapa de evisceração é a maior fonte de contaminação no abate de suínos devido às alterações da permeabilidade da parede intestinal (WHEATLEY *et al.*, 2014; VELEBIT *et al.*, 2021), que, por sua vez, podem ter contribuído para a manutenção da contaminação nessa etapa.

No abatedouro frigorífico A, 1ª coleta, o pernil apresentou maiores contagens na carcaça nas etapas após a sangria, após a toailete manual, antes da evisceração e após a evisceração, variando de $1,8 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$ na etapa após a sangria para $3,9 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$ na etapa após a evisceração. Diferentemente, Pearce *et al.* (2004) obtiveram contaminação média de 10^6 UFC/cm^2 de Coliformes totais na etapa após a sangria e, ao comparar a contaminação entre os pontos de coleta na carcaça, identificaram que a barriga foi o ponto de maior contaminação na etapa após a evisceração. Nas etapas após a depilação e após a lavagem final, os pontos com as maiores contagens foram a axila ($9,1 \times 10^1 \text{ UFC/cm}^2$) e o lombo ($1,2 \times 10^2 \text{ UFC/cm}^2$), respectivamente. Na etapa de pós-lavagem da carcaça, a área do lombo apresentou a maior contagem, seguida pela papada e axila, no entanto houve redução na contagem logarítmica no pernil para $4,9 \times 10^1 \text{ UFC/cm}^2$. Uma possível justificativa para essa contaminação é a de contaminação cruzada tendo em vista a propulsão das carcaças ser manual em ambos os abatedouros frigoríficos A e B, tal como descrito por Ducas & Silva (2011) em estudo sobre análises microbiológicas em carcaças suínas em abatedouro frigorífico de Uberlândia, Minas Gerais, e Jaja, Green e Muchenje (2018), ao avaliarem a contaminação em carcaças de suínos de abatedouros frigoríficos na Província de Cabo Oriental, na África do Sul.

No abatedouro frigorífico B, na 1ª coleta, as contagens iniciais foram maiores na etapa após a sangria com valor de $4,0 \log \text{ UFC/cm}^2$. Após a etapa da depilação, as contagens reduziram para $3,78 \log \text{ UFC/cm}^2$, provavelmente em decorrência da etapa de escaldagem, assim como ocorrido para os demais microrganismos indicadores testados neste estudo, ou seja,

Enterobacteriaceae e *Escherichia coli*. De acordo com Matsubara (2005), Choi *et al.* (2013) e Nastasijevic *et al.* (2016), a condição higiênica da pele dos animais que entram para o abate interfere na condição microbiológica das carcaças, sendo uma das principais fontes de contaminação cruzada no abate. As contagens aumentaram na etapa após a toailete manual para 5,61 log UFC/cm². O aumento na contagem logarítmica na etapa após a etapa de toailete manual (Figura 21) pode ser em decorrência da disseminação dos microrganismos na pele com o próprio procedimento e também em decorrência de má higienização de facas (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Antes da evisceração, houve também redução na contagem logarítmica de 5,61 para 4,0 log UFC/cm², e houve aumento na etapa após a evisceração para 6,0 log UFC/cm², mantendo-se esta contagem após a lavagem da carcaça. A redução ocorrida na etapa antes da evisceração pode ser em decorrência da lavagem da carcaça, assim como observado por Jaja, Green e Muchenje (2018), na África do Sul. Ainda assim, não se pode afirmar que a lavagem reduziu a contaminação, uma vez que as contagens permaneceram altas. Rodrigues *et al.* (2021) obtiveram as menores contagens de Coliformes totais após as lavagens, tanto após a toailete da depilação como após a lavagem final, antes do resfriamento. A etapa de lavagem é controversa entre os autores. Segundo Belluco *et al.* (2015), em revisão sobre contagens de microrganismos em carcaças suínas, a redução causada não seria significativa para justificar essa etapa como um tratamento descontaminante. No entanto, outros autores (BRUSTOLIN *et al.*, 2014; JAJA; GREEN e MUCHENJE, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2021) apresentaram resultados com reduções significativas das contagens bacterianas nas etapas de lavagem.

Na 1ª coleta do abatedouro frigorífico B, a contaminação ainda aumentou após a evisceração e se manteve após a lavagem das carcaças, podendo ser justificada, de acordo com Bolton *et al.* (2002) e Rodrigues *et al.* (2021), pela contaminação da água de lavagem, pela contaminação cruzada das mãos dos manipuladores quando da propulsão manual das carcaças, pela mobilização das bactérias na superfície da carcaça levando a melhores recuperações na amostragem e até mesmo pela deposição de bactérias do ar durante o abate. Cê (2016), em seu estudo sobre as etapas do abate e níveis de microrganismos na qualidade do abate, também identificou aumentos nas contagens de microrganismos indicadores após a lavagem final.

Na etapa após a sangria da 1ª coleta do abatedouro frigorífico B, apenas a região do lombo apresentou contagem baixa do microrganismo ($6,6 \times 10^1$ UFC/cm²) quando comparada às demais áreas da carcaça, as quais apresentaram contagens maiores a 10^4 UFC/cm². Após a evisceração, todos os pontos apresentaram contagens acima de 10^4 e 10^6 UFC/cm².

É importante elucidar que o abatedouro frigorífico B foi informado a respeito das altas contagens e recontaminação após a evisceração identificadas na 1ª coleta, levando os gestores a tomar ações corretivas no processo de abate. Dessa forma, é possível identificar na 2ª coleta do abatedouro frigorífico B que as contagens após a etapa de sangria ($2,32 \log \text{ UFC/cm}^2$) reduzem até a etapa antes da evisceração, alcançando contagem de $0,6 \log \text{ UFC/cm}^2$. Mesmo após as ações corretivas, houve um aumento da contagem após a evisceração, com valor de $2,0 \log \text{ UFC/cm}^2$, e posterior redução após a lavagem das carcaças, com ausência de crescimento nessa etapa. Sendo assim, pode-se inferir que as boas práticas de manipulação foram essenciais para a redução das contagens nas coletas do abatedouro frigorífico B. De acordo com Ducas *et al.* (2010), a educação dos manipuladores e a supervisão das rotinas de higiene são fatores importantes que poderiam reduzir os índices de contaminação nas carcaças. No entanto, fica evidente que a etapa de evisceração ainda é uma etapa crítica de contaminação como descrito por Bolton *et al.* (2002).

Tanto a 1ª coleta do abatedouro frigorífico A como a 2ª coleta do abatedouro B apresentaram redução das contagens de Coliformes totais após a lavagem ocorrida antes da evisceração e antes da etapa do resfriamento, corroborando os resultados verificados por Jaja, Green e Muchenje (2018), em estudo em abatedouros frigoríficos na África do Sul, no qual verificaram a redução das contagens de Coliformes totais após a lavagem das carcaças, e também com o estudo de Yu *et al.* (1999), que identificaram que a lavagem reduzia a contagem bacteriana em 69%. Estes autores ainda sugerem que a etapa de toailete manual ou mecanizada pode ser uma etapa a ser incluída em uma análise de pontos críticos de controle. Ducas *et al.* (2010), em estudo em carcaças suínas em Uberlândia, Brasil, também identificaram redução nas contagens de Coliformes totais após a lavagem final das carcaças de suínos.

Bohayuchuk *et al.* (2009), em estudo em Alberta, no Canadá, identificaram que a maioria das amostras apresentaram níveis inferiores ou iguais a 10 UFC/cm^2 de Coliformes totais em carcaças suínas, com médias logarítmicas de $0,14 \log \text{ UFC/cm}^2$ em abatedouros de baixo volume de abate e médias de $0,24 \log \text{ UFC/cm}^2$ em abatedouros de maiores volumes de abate. Já neste estudo, as contagens médias das carcaças nos abatedouros frigoríficos A e B foram superiores às detectadas no Canadá, com valores de $2,68 \log \text{ UFC/cm}^2$ na 1ª coleta no abatedouro frigorífico A, $6,39 \log \text{ UFC/cm}^2$ na 1ª coleta no abatedouro frigorífico B e $2,85 \log \text{ UFC/cm}^2$ na 2ª coleta no abatedouro frigorífico B.

De acordo com Pearce *et al.* (2004), entre os microrganismos indicadores, os Coliformes totais, por representarem um grupo de organismos mais diversificados, são melhores para demonstrar diferenças entre tratamentos, uma vez que *Escherichia coli* e *Enterobacteriaceae*

geralmente estão presentes em menor número, podendo apresentar valores logarítmicos negativos. Neste estudo, a contagem de coliformes foi possível e indicou pontos críticos de contaminação nas etapas da tecnologia do abate, os quais prejudicam a qualidade higiênica sanitária das carcaças.

5.2 Isolamento de *Escherichia coli*

Foram obtidos 23 isolados de *E. coli* na 1ª coleta do abatedouro frigorífico A e 29 isolados na 2ª coleta do abatedouro frigorífico B, com um total de 52 isolados, cujas identificações encontram-se na Tabela 3.

A partir desses isolados, foram realizados o antibiograma, a pesquisa de genes de virulência e a avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro*.

Tabela 3. Identificação dos isolados de *Escherichia coli* por etapa do processamento tecnológico do abate e local na carcaça, nos abatedouros frigoríficos A na 1ª coleta e B na 2ª coleta.

| Etapa do abate | Abatedouro frigorífico/ coleta | Pernil | Lombo | Axila/ Paleta | Barriga | Papada |
|-------------------------------|---------------------------------------|---------------|--------------|----------------------|----------------|---------------|
| Após a sangria | A (1ª coleta) | 1A | 1B | 1C | 1D | 1E |
| | B (2ª coleta) | 7A | 7B | 7C | 7D | 7E |
| Após a depiladeira | A (1ª coleta) | 2A | 2B | 2C | ND | ND |
| | B (2ª coleta) | 8A | 8B | 8C | 8D | 8E |
| Após a toailete manual | A (1ª coleta) | 3A | 3B | ND | 3D | 3E |
| | B (2ª coleta) | 9A | 9B | 9C | 9D | 9E |
| Antes da evisceração | A (1ª coleta) | 4A | ND | ND | 4D | 4E |
| | B (2ª coleta) | 10A | 10B | 10C | 10D | 10E |
| Após a evisceração | A (1ª coleta) | 5A | 5B | 5C | 5D | ND |
| | B (2ª coleta) | 11A | 11B | 11C | 11D | 11E |
| Após a lavagem final | A (1ª coleta) | 6A | 6B | ND | 6D | 6E |
| | B (2ª coleta) | 12A | 12B | ND | 12D | 12E |

ND = não detectado.

5.3 Antibiograma dos isolados de *Escherichia coli*

Os resultados do antibiograma dos isolados de *Escherichia coli*, oriundos dos abatedouros frigoríficos A e B, localizados na região do Distrito Federal, encontram-se na Tabela 4.

Os antimicrobianos com maior percentual de resistência detectados neste estudo foram os beta-lactâmicos amoxicilina e ampicilina, ambos com 88,5% de resistência nos isolados, seguidos pelo sulfonamida com 84,61%, cloranfenicol com 82,7% e estreptomicina com 80,8% de resistência. De acordo com CLSI (2021), os resultados do antibiograma para ampicilina podem ser utilizados para prever os resultados para amoxicilina, o que explica a mesma proporção de resistência para ambos antimicrobianos neste estudo.

Tabela 4. Antibiograma dos isolados de *Escherichia coli* dos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal, pelo método de disco-difusão, interpretados de acordo com os parâmetros do CLSI (2021), como resistentes (R), intermediários (I) ou sensíveis (S). (continua)

| Antimicrobiano | RESISTENTES | INTERMEDIÁRIOS | SENSÍVEIS |
|-------------------------|---|---|--|
| Ácido Nalidíxico | 1A-1B-1C-1D; 2A-2B-2C; 3A-3D; 4A-4E; 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E; 7B-7C-7D; 8B-8C-8D; 9A-9B-9D-9E; 10A-10C-10D; 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | 3B-3E 7A-7E 8A | 1E; 4D 8E; 9C 10B-10E 12A-12B-12D |
| Amoxicilina | 1A-1B-1C-1D-1E; 2A-2B-2C-3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E; 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6E; 7A-7B-7D-7E; 8A-8B-8C-8D-8E; 9A-9B-9D-11A-11B-11C-11D-11E 12A-12B-12D-12E | | 6D 7C 9C-9E 10C-10E |
| Ampicilina | 1A-1B-1C-1D-1E; 2A-2B-2C-3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E-5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6E-7A-7B-7D-7E 8A-8B-8C-8D-8E; 9A-9B-9D-11A-11B-11C-11D-11E 12A-12B-12D-12E | | 6D 7C 9C-9E 10C-10E |
| Cefazolina | 1D 8A-8D 10A-10- | 1A-1B-1C-1E; 2A-2B-2C; 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E; 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 8B-8C-8E; 9A; 11E | 7A-7B-7C-7D-7E; 9B-9C-9D-9E; 10B-10D-10E; 11A-11B-11C-11D 12A-12B-12D-12E |

Tabela 4. Antibiograma dos isolados de *Escherichia coli* dos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal, pelo método de disco-difusão, interpretados de acordo com os parâmetros do CLSI (2021), como resistentes (R), intermediários (I) ou sensíveis (S). (continuação)

| Antimicrobiano | RESISTENTES | INTERMEDIÁRIOS | SENSÍVEIS |
|-----------------------|---|--|---|
| Ceftazidima | 2A-2B 8A 9C | 1C | 1A-1B-1D-1E; 2C; 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E; 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7C-7D-7E 8B-8C-8D-8E; 9A-9B-9D-9E; 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12A-12B-12D-12E |
| Ciprofloxacina | 1C-1D; 2C; 3B-3D-3E; 4E 5D; 6D 7C; 9A 10A-10D | 1A; 4A; 5B; 6A 7A-7E; 8A 9D; 10C | 1B-1E; 2A-2B; 3A; 4D 5A-5C; 6B-6E 7B-7D; 8B-8C-8D-8E 9B-9C-9E; 10B-10E 11A-11B-11C-11D-11E 12A-12B-12D-12E |
| Cloranfenicol | 1A-1C-1D; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4E 5A-5B-5D; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7C-7D-7E; 8A-8B-8C-8E; 9A-9B-9D-9E 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | 8D | 1B-1E 4D; 5C 9C 12A-12B-12D |
| Colistina | 8A 9C | 8D-8E | 1A-1B-1C-1D-1E; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E; 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7C-7D-7E; 8B-8C-8E; 9A-9B-9D-9E 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E 12A-12B-12D-12E |
| Doxicilina | 1A-1B; 6D 7A-7B-7C-7D-7E 8A-8B-8C-8D-8E 9A-9B-9D-9E 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | 1D-1E | 1C; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E 5A-5B-5C-5D 6A-6B-6E 9C 12A-12B-12D |

Tabela 4. Antibiograma dos isolados de *Escherichia coli* dos abatedouros frigoríficos A e B localizados na região do Distrito Federal, pelo método de disco-difusão, interpretados de acordo com os parâmetros do CLSI (2021), como resistentes (R), intermediários (I) ou sensíveis (S). (continuação)

| Antimicrobiano | RESISTENTES | INTERMEDIÁRIOS | SENSÍVEIS |
|-----------------------|---|---------------------|---|
| Estreptomicina | 1A-1C-1D-1E; 2A-2B-2C; 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E; 5A-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7C-7D-7E 8A-8B-8C-8E; 9A-9B-9D; 10A-10B-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | 8D 9E 10C-10D | 1B 5B 9C 12A-12B-12D |
| Eritromicina | 1A-1B-1C-1D-1E; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 7A; 8A-8B-8C-8D 10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | | 7B-7C-7D-7E; 8E 9A-9B-9C-9D-9E 10A-10B 12A-12B-12D |
| Gentamicina | 1C-1D 2C 4E; 5B-5D 7C | | 1A-1B-1E; 2A-2B; 3A-3B-3D-3E; 4A-4D; 5A-5C; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7D-7E; 8A-8B-8C-8D-8E; 9A-9B-9C-9D-9E 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E 12A-12B-12D-12E |
| Sulfonamida | 1A-1C-1D-E; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6D-6E 7A-7B-7C-7D-7E; 8C-8E; 9A-9B-9E; 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E 12D-12E | | 1B 3A-3B-3D-3E 8A-8B-8D 9C-9D 12A-12B |
| Tetraciclina | 1A-1B; 6D 7A-7B-7C-7D-7E 8A-8B-8C-8D-8E 9A-9B-9D-9E 10A-10B-10C-10D-10E 11A-11B-11C-11D-11E; 12E | | 1C-1D-1E; 2A-2B-2C 3A-3B-3D-3E; 4A-4D-4E 5A-5B-5C-5D; 6A-6B-6E 9C 12A-12B-12D |

AMO = amoxicilina, AMP = ampicilina, CFZ = cefazolina, CAZ = ceftazidima, ERI = eritromicina, EST = estreptomicina, GEN = gentamicina, DOX = doxiciclina, TET = tetraciclina, CLO = cloranfenicol, NAL = ácido nalidíxico, CIP = ciprofloxacina, COL = colistina.

Seguindo a definição de multirresistência estipulada por Magiorakos *et al.* (2012), foram considerados como multirresistentes 49 isolados de *E. coli* (94,23%) com resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Resultados similares foram obtidos por Mangal, Rao e Joshi (2018), em avaliação de carne suína na Índia, que identificaram 100% de resistência à

ampicilina de 41 isolados de *E. coli*. Semelhante aos achados no presente estudo, Pissetti *et al.* (2017), em estudo de resistência antimicrobiana em carcaças suínas em Santa Catarina, Brasil, detectaram perfil de multirresistência em 71,5% das cepas, com maiores frequências detectadas para a tetraciclina (97,8%), o cloranfenicol (86,4%), a sulfonamida (85,1%) e a ampicilina (81,1%).

A sulfonamida foi o segundo antimicrobiano que apresentou mais resistência nos isolados de *E. coli* deste estudo. Em pesquisa realizada a partir de fezes suínas, em granjas de criação na região do Distrito Federal, em 2012, foram identificadas resistências antimicrobianas para sulfonamidas (74,8% das cepas) e tetraciclinas (70,1% das cepas) (DRUMMOND e PERECMANIS, 2013). Diferentemente do estudo desses autores, as tetraciclinas neste estudo apresentaram menores frequências de resistência, sendo 28 de 52 isolados resistentes à doxiciclina e 28 de 52 resistentes à tetraciclina (53,9%), estando desta forma diferente de diversos estudos que apresentaram altos índices de resistência à tetraciclina (ROSENGREN; WALDNER e REID-SMITH, 2009; BISCHOFF *et al.*, 2002; JIANG *et al.*, 2011; GEMEDA *et al.*, 2021; SATO *et al.*, 2015).

Foram detectados 44 de 52 (84,61%) isolados resistentes ao cloranfenicol, de uso proibido em animais no Brasil desde 2003 (BRASIL, 2003). O resultado obtido é corroborado pelo estudo de Mangal, Rao e Joshi (2018), que verificaram a resistência ao cloranfenicol em 30 isolados (73,2%) na Índia. Drummond e Perecmanis (2013) também identificaram a presença de 34,7% de cepas resistentes ao cloranfenicol nas fezes de suínos no DF. A permanência dessa resistência pode ser atribuída à manutenção dos genes de resistência ao cloranfenicol à cosseleção com outros genes de resistência e virulência (DRUMMOND e PERECMANIS, 2013; KIM *et al.*, 2011; ROSENGREN; WALDNER e REID-SMITH, 2009; BISCHOFF *et al.*, 2005; TADESSE *et al.*, 2012), no entanto seriam necessários mais estudos para essa comprovação.

A resistência aos antimicrobianos estreptomicinas e sulfonamida verificados neste estudo foi de 80,8% e 84,6% respectivamente, sendo diferente dos resultados de Mangal, Rao e Joshi (2018), que obtiveram 100% de sensibilidade para estreptomicina e sulfonamida em carne suína do varejo, na Índia. A resistência à estreptomicina é um achado comum em *E. coli* isolada de animais e produtos animais e, juntamente com a resistência à ampicilina, está entre os fenótipos de resistência que são frequentemente cotransferidos com a resistência às sulfonamidas (PISSETTI *et al.*, 2017), o que pode explicar os resultados deste estudo, uma vez que os isolados também apresentaram 81,1% de resistência a sulfonamidas.

As menores frequências de resistência foram observadas para a colistina (3,85%), as cefalosporinas de 1ª geração - cefazolina (9,6%) - e de 3ª geração - ceftazidima (7,7%) -, seguidas pela gentamicina (13,5%). Moennighoff *et al.* (2020), em estudo para verificar a redução da resistência antimicrobiana em suínos na Alemanha, identificaram baixas frequências, menores que 15%, para resistência à colistina e à gentamicina, tal qual neste estudo. As cefalosporinas de 3ª geração fazem parte dos denominados antimicrobianos de mais alta prioridade, criticamente importantes na medicina humana, juntamente com as polimixinas (colistina), as quinolonas, os macrolídeos e os ketolídeos e os glicopeptídeos (WHO, 2019) e observou-se neste estudo 7,7% de presença de resistência em isolados de *E. coli*, sendo dessa forma o primeiro relato dessa resistência, em carcaças de suínos na região (DF e Centro Oeste).

Foram identificados 2/52 (3,85%) isolados resistentes à colistina. Já na Ásia, os resultados de resistência a esse antimicrobiano apresentam valores mais altos, variando de 24% a 55%, tendo sido relacionado ao seu amplo uso como promotor de crescimento em suínos até o ano de 2016 (NGUYEN *et al.*, 2016; HUANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2010). Por se tratar de um antimicrobiano utilizado como opção para bactérias Gram negativas multirresistentes, o Brasil também impôs restrições ao uso da colistina como promotor de crescimento em 2016 (BRASIL, 2016); no entanto, diferentemente dos achados na Ásia, foram identificados apenas 3,85% de isolados de *E. coli* resistentes à colistina no Distrito Federal, em carcaças suínas, e 9,8% de *E. coli* resistentes em leitões doentes de granjas localizadas nos Estados do Sul do Brasil, Minas Gerais e Goiás, por Sato *et al.* (2015).

Dos 52 isolados, todos apresentaram resistência a pelo menos dois antimicrobianos. Detectou-se em 15 isolados a presença de multirresistência para 7 antimicrobianos, sendo esta a maior frequência de multidrogas resistência neste estudo. No entanto, três (5,77%) isolados apresentaram resistência a 10 antimicrobianos. Com relação à sensibilidade, apenas dois isolados apresentaram sensibilidade a 12 antimicrobianos dos 14 testados, sendo os antimicrobianos mais sensíveis a colistina (92,3%), a ceftazidima (90,4%) e a gentamicina (86,5%).

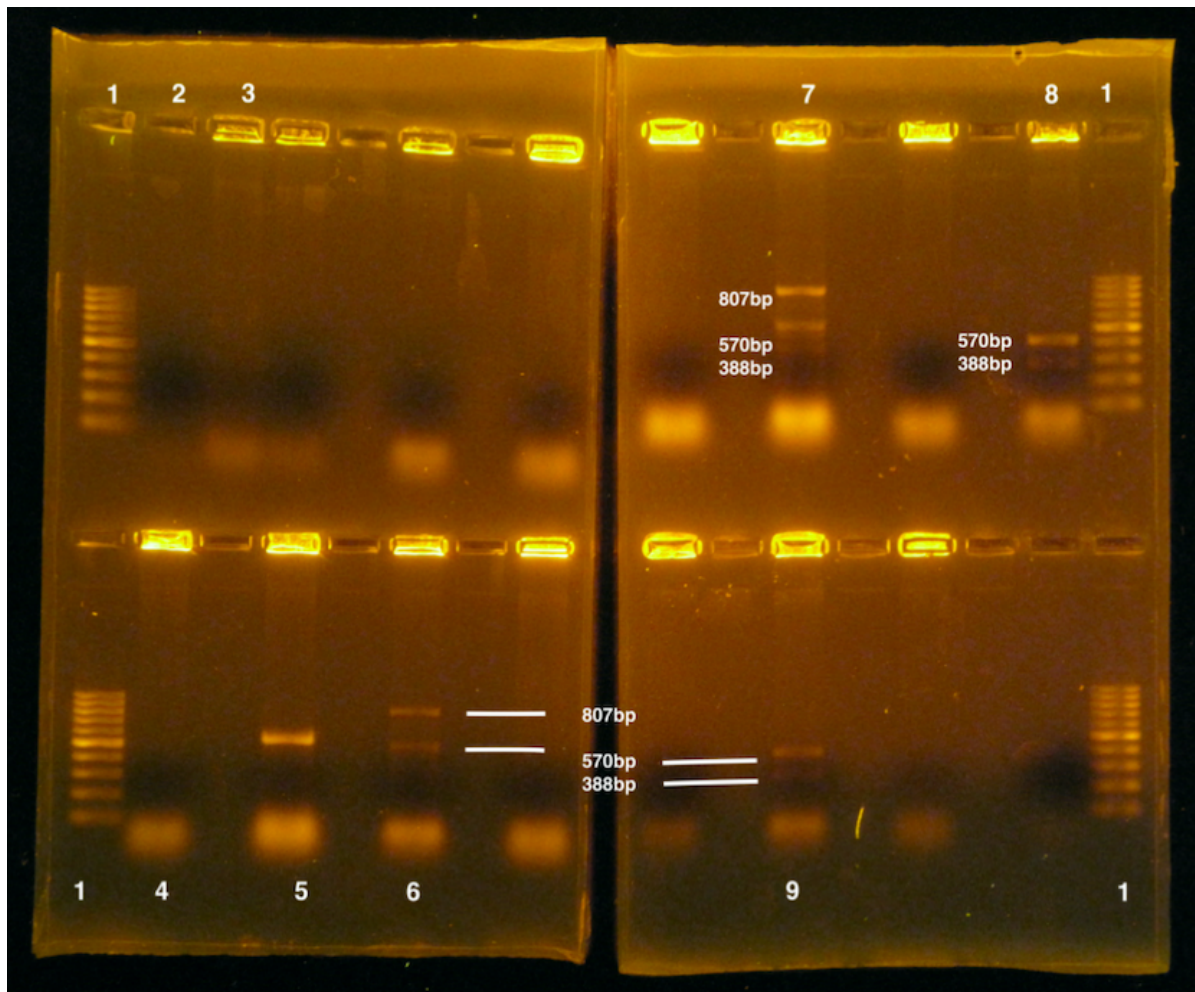
A resistência antimicrobiana é um problema global e representa uma ameaça crescente à saúde pública (OPAS/WHO, 2022). Bactérias resistentes podem ser transmitidas ao homem ao consumir e ao manipular alimentos contaminados, pelo contato direto com animais e até pela distribuição destas bactérias no ambiente (FAO/WHO/OIE, 2008). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a resistência fenotípica está presente nos abatedouros frigoríficos A e B, e a maioria dos isolados de *E. coli* apresentaram multirresistência.

5.4 Detecção dos genes de virulência *eae*, *stx1* e *stx2* em *Escherichia coli*

Foram identificados por PCR os genes *eae* em 24 (46,15%) isolados, o gene *stx1* em 16 (30,8%) isolados e em 9 (17,3%) o gene *stx2*, do total de 52 isolados de *E. coli*. Apenas três (5,8%) isolados apresentaram os três genes, *stx1*, *stx2* e *eae*, em um mesmo isolado (5D, 8A e 11D), Figura 22. Os resultados da detecção dos genes de virulência juntamente com os resultados dos antibiogramas dos isolados desta pesquisa encontram-se na Tabela 6.

A presença de *Escherichia coli* com os genes *stx1* e *stx2* pode ser denominada STEC - *Escherichia coli* produtora de Shiga like toxina (PATON & PATON, 1998; TSENG *et al.*, 2014). Especificamente para esses genes, foram detectados 11 isolados com *stx1*, 4 isolados com *stx2* e 5 isolados contendo ambos os genes, *stx1* e *stx2*. Esses genes têm sido os principais marcadores para detecção de STEC por PCR (CHASSAGNE *et al.*, 2009). Tal qual os resultados em relação à detecção destes genes neste estudo, Bouvet *et al.* (2002) detectaram 48 isolados de STEC em carcaças suínas em abatedouros na França, sendo 47 com o gene *stx2*, e apenas um isolado com o gene *stx1*, no entanto o presente estudo identificou maior número de isolados contendo o gene *stx1* que *stx2*. Estes autores também pesquisaram o gene *eae*, mas não o identificaram, considerando os isolados de baixo potencial de perigo à saúde pública, pois o simples achado dos genes *stx* em alimentos não seria ameaça ao consumo humano (KAPER, NATARO e MOBLEY, 2004).

Figura 22. Detecção dos genes de virulência *stx1*, *stx2* e *eae* múltipla PCR em isolados de *Escherichia coli* oriundas de carcaça de suíno do abatedouro frigorífico B, em dois géis. 1) marcador 100bp, 2) controle negativo, 3) controle positivo para o gene *stx1* (388bp) em *Escherichia coli*, 4) isolado 10D – negativo, 5) isolado 10E – positivo para o gene *eae* (570bp), 6) isolado 11A – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx2* (807bp), 7) isolado 11D – positivo para os genes *eae* (570bp), *stx1* (388bp) e *stx2* (807bp), 8) isolado 12A – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx1* (388bp), 9) isolado 12D – positivo para os genes *eae* (570bp) e *stx1* (388bp).



Diferentemente, no presente estudo foram identificados 24 isolados contendo o gene *eae*; destes, cinco apresentaram também o gene *stx1* (1E, 4A, 6B, 12A e 12D), e três apresentaram o gene *stx2* (3E, 9A e 11A). Ainda, três isolados apresentaram os três genes (*stx1*, *stx2* e *eae*), podendo representar um perigo ao consumo humano, tendo em vista conter um dos fatores que podem potencializar a capacidade de infecção de STEC, pela presença do gene da intimina (FRIEDERICH *et al.*, 2002; GYLES, 2007).

No Brasil não há descrição de surtos de STEC relacionados ao consumo da carne suína, no entanto existe a descrição de três surtos entre 2014 e 2018 relacionados à STEC O157:H7 no Canadá, ocorrendo a detecção dos genes *stx2a* e *stx1a+stx2a* e do gene *eae* nos isolados no estudo de ZHANG *et al.* (2021), corroborando a importância dos achados deste estudo, apesar de não ter sido realizada a sorotipificação dos isolados.

No abatedouro frigorífico A, o gene *stx1* foi identificado em isolados oriundos de quatro pontos do processamento tecnológico do abate. Foram eles: após a sangria (1E - papada), antes da evisceração (4A - pernil e 4D - axila), após a evisceração (5D - barriga) e após a lavagem da carcaça previamente ao resfriamento (6B - lombo). Já o gene *stx2* foi identificado após a toailete manual (3E - papada) e após a evisceração (5D - axila). O gene *eae* foi identificado em todas as etapas do processamento tecnológico do abate: após a sangria (1B - lombo, 1C - axila e 1E - papada), após a depiladeira (2A - pernil), após a toailete manual (3A - pernil, 3B - lombo, 3E - papada), antes da evisceração (4A - pernil, 4D - barriga), após a evisceração (5A - pernil, 5D - barriga) e após a lavagem da carcaça previamente ao resfriamento (6B - lombo, 6D - barriga).

Tabela 5 - Antibiograma, detecção por PCR dos genes de virulência *stx1*, *stx2* e *eae* nos isolados de *Escherichia coli* oriundos de carcaças de suínos dos abatedouros frigoríficos A e B, localizados no Distrito Federal.

| Isolados | Abatedouro | Resistência antimicrobiana | Gene(s) de virulência(s) presente(s) |
|----------|------------|---|--|
| 1B | A | AMO AMP ERI DOX TET NAL | <i>eae</i> |
| 1C | A | AMO AMP ERI EST GEN SUL CLO NAL CIP | <i>eae</i> |
| 1E | A | AMO AMP ERI EST SUL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |
| 2A | A | AMO AMP CAZ ERI EST SUL CLO NAL | <i>eae</i> |
| 3A | A | AMO AMP EST ERI SUL CLO NAL | <i>eae</i> |
| 3B | A | AMO AMP ERI EST SUL CLO CIP | <i>eae</i> |
| 3E | A | AMO AMP ERI EST SUL CLO CIP | <i>eae</i> , <i>stx2</i> |
| 4A | A | AMO AMP ERI EST SUL CLO NAL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |
| 4D | A | AMO AMP ERI EST SUL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |
| 5A | A | AMO AMP ERI EST SUL CLO NAL | <i>eae</i> |
| 5D | A | AMO AMP ERI EST GEN SUL CLO NAL CIP | <i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| 6B | A | AMO AMP ERI EST SUL CLO NAL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |
| 6D | A | ERI EST SUL DOX TET CLO NAL CIP | <i>eae</i> |
| 7A | B | AMO AMP ERI EST SUL DOX TET CLO | <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| 7B | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL | <i>stx1</i> |
| 7C | B | EST GEN SUL DOX TET CLO NAL CIP | <i>stx1</i> |
| 7D | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL | <i>stx1</i> |
| 7E | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO | <i>stx1</i> |
| 8A | B | AMO AMP CFZ CAZ ERI EST DOX TET CLO COL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| 8B | B | AMO AMP ERI EST DOX TET CLO NAL | <i>stx2</i> |
| 8E | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO | <i>eae</i> |
| 9A | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL CIP | <i>eae</i> , <i>stx2</i> |
| 9B | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL | <i>eae</i> |
| 9C | B | CAZ COL | <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| 10B | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO | <i>eae</i> |
| 10C | B | CFZ ERI SUL DOX TET CLO NAL | <i>stx1</i> |
| 10E | B | EST SUL DOX TET CLO | <i>eae</i> |
| 11A | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL | <i>eae</i> , <i>stx2</i> |
| 11D | B | AMO AMP EST SUL DOX TET CLO NAL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i> |
| 12A | B | AMO AMP ERI | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |
| 12B | B | AMO AMP | <i>eae</i> |
| 12D | B | AMO AMP ERI SUL | <i>eae</i> , <i>stx1</i> |

AMO = amoxicilina, AMP = ampicilina, CFZ = cefazolina, CAZ = ceftazidima, ERI = eritromicina, EST = estreptomicina, GEN = gentamicina, SUL = Sulfonamida, DOX = doxiciclina, TET = tetraciclina, CLO = cloranfenicol, NAL = ácido nalidixico, CIP = ciprofloxacina, COL = colistina.

No abatedouro frigorífico B, o gene *stx1* foi identificado em isolados de *E coli* oriundos de todos os pontos da carcaça na etapa após a sangria (7 A, B, C, D, E), antes da evisceração na axila (10C), após a evisceração na barriga (11D) e após a lavagem da carcaça previamente ao resfriamento no lombo (12B) e barriga (12D). O gene *stx2* foi identificado na etapa após a sangria (7A – pernil), após a depiladeira (8A – pernil e 8B – lombo), após a toailete manual (9A - papada e 9C - axila) e após a evisceração (11A - pernil e 11D - barriga). Já o gene *eae* não foi identificado na etapa da sangria, mas foi identificado nas demais etapas: após a depilação (8A - pernil), após a toailete manual (9A – pernil e 9B – lombo), antes da evisceração (10A - pernil e 10E – papada), após a evisceração (11A – pernil e 11D – barriga) e após a lavagem da carcaça previamente ao resfriamento (12A – pernil, 12B – lombo e 12D – barriga). Dessa forma, é possível afirmar que em todas as etapas do processamento tecnológico do abate de suínos pode-se potencialmente veicular *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga.

5.5 Isolamento, confirmação de *Salmonella* spp. e antibiograma

Dois isolados de *Salmonella* spp. foram detectados neste estudo, sendo obtidos na segunda coleta do abatedouro frigorífico B, na etapa após a sangria, na região da axila e na barriga. Tal qual nesta pesquisa, Visciano *et al.* (2020) também encontraram um isolado de *Salmonella* em avaliação da contaminação bacteriana no abate de suínos na Itália Central, atribuindo o fato à contaminação cruzada no transporte, no entanto neste estudo não temos como precisar a origem da contaminação. Corroborando os resultados deste estudo em relação à detecção de *Salmonella* spp. em carcaças de suínos do Distrito Federal, Silva *et al.* (2018) identificaram 29,17% de presença de *Salmonella* spp. em carcaças suínas e, considerando apenas os suínos provenientes do Distrito Federal, identificaram uma frequência de isolamento que variou entre 14,29% e 19,51%, mas não informaram os pontos do abate ou da carcaça em que as contaminações foram detectadas.

Hernández *et al.* (2013) detectaram *Salmonella* spp. na etapa pré-escaldagem, após a sangria, na qual identificaram 29 isolados em 80 amostras de carcaças. No presente estudo, os dois isolados foram identificados na etapa anterior à escaldagem, após a sangria, e não houve a identificação de *Salmonella* nas demais etapas do abate.

Cabral *et al.* (2017), em estudo em pequenos abatedouros no Rio de Janeiro, detectaram *Salmonella* spp. na papada e no pernil de suínos em três abatedouros, mas não realizaram a detecção dos mesmos pontos na carcaça do presente estudo. Velasco, Bruzza e Schmidt (2017),

em estudo em abatedouros sob inspeção municipal, também relataram isolados na papada, mas não no pernil e na axila.

Vivian *et al.* (2021) identificaram a maior contaminação por *Salmonella* na etapa após a sangria (67%) e antes da escaldagem (56%), similar ao resultado deste estudo em relação à etapa de processamento tecnológico na qual foi detectado o microrganismo, no entanto aqueles autores identificaram também na extração do reto (33%) e após a evisceração (11%), o que não foi identificado no presente estudo. Dessa forma, aqueles autores identificaram como etapas críticas do abate para a detecção de *Salmonella* a etapa da sangria, antes da escaldagem e a etapa de evisceração.

Os dois isolados de *Salmonella* identificados na etapa do abate após a sangria apresentaram resistência à tetraciclina e à doxiciclina, ao ácido nalidíxico, à ampicilina e ainda, o isolado 7C apresentou resistência à ciprofloxacina, e o isolado 7D resistência à gentamicina, podendo, dessa forma, ser consideradas multirresistentes. Ambos os isolados apresentaram sensibilidades à ceftazidima, cefalosporina de 3ª geração considerada pela OMS como altamente crítica para o uso humano. Também foram sensíveis à cefazolina (cefalosporina de 1ª geração), à sulfonamida, ao cloranfenicol, à estreptomicina e à colistina. Kich *et al.* (2011), em estudo sobre a distribuição e tipos de *Salmonella* em carcaças suínas em Santa Catarina, identificaram o perfil de resistência antimicrobiana para ampicilina, gentamicina, kanamicina e tetraciclina como a mais prevalente em carcaças, semelhante ao isolado 7D deste estudo. Também Kich *et al.* (2020), estudando a frequência de *Salmonella enterica* no sul do Brasil, identificaram maior frequência de resistência à tetraciclina (52,54%), ampicilina (50,8%), ácido nalidíxico (42,62%) e cloranfenicol (42,62%), semelhante aos isolados 7C e 7D deste estudo, com exceção ao cloranfenicol. De forma semelhante aos isolados de *Salmonella* deste estudo, Velasco, Bruzza e Schmidt (2017) também identificaram alto percentual de resistência à tetraciclina (66,6%) deste microrganismo em isolados de linfonodos de suínos no sul do Brasil; no entanto, houve baixo percentual à ampicilina (0,1%) e ao ácido nalidíxico (0,05%).

A *Salmonella* em alimentos é um problema para a saúde humana uma vez que se encontra em toda a cadeia de produção de alimentos, sendo a 2ª infecção gastrointestinal relatada na União Europeia, com 87.923 casos em 2019, com a carne suína ocupando o 4º lugar nos casos de salmonelose (EFSA, 2020; LIBERA *et al.*, 2022). No Brasil, no período de 2007 a 2015, de 2.243 surtos, 25,17% foram causados por *Salmonella* spp. No entanto, em razão da deficiência no diagnóstico, nas notificações e da falha no encerramento dos casos por critério laboratorial, os resultados apresentados pelo Ministério da Saúde quanto às doenças

transmitidas por alimentos podem não refletir a realidade dos surtos, uma vez que, na maioria dos casos, não há identificação do agente etiológico (BRASIL, 2020).

Dessa forma, a detecção de *Salmonella* spp. com perfil antimicrobiano multirresistente em suínos criados no Distrito Federal serve de alerta para o controle e o monitoramento desse microrganismo nesse tipo de alimento na região.

5.6 Isolamento, confirmação de *Listeria Monocytogenes* e antibiograma

Foram detectados por PCR dois isolados de *Listeria monocytogenes* das 30 amostras de *swabs* da carcaça de suíno do abatedouro frigorífico B. Não foi detectada *Listeria monocytogenes* nos 30 *swabs* do abatedouro frigorífico A. Um isolado (8C) foi detectado na etapa tecnológica do abate após a etapa da depilação, na região da axila da carcaça, e o outro (12D) após a etapa da lavagem final da carcaça, na região da barriga. Moráles-Partera *et al.* (2018), semelhante ao presente estudo em relação à detecção deste microrganismo, encontraram dois isolados de *Listeria monocytogenes* em 150 amostras de carcaças suínas na Andaluzia, na Espanha. Corroborando estes estudos, Wesley *et al.* (2008) identificaram dois isolados de *Listeria monocytogenes* em matrizes suínas, um a partir de *swab* de carcaça e outro de *swab* de tonsila, no Centro Oeste dos Estados Unidos. Diferentemente do presente estudo em relação às etapas do processo tecnológico do abate, Ferronato *et al.* (2012) isolaram *Listeria monocytogenes* em cinco carcaças após a etapa da evisceração, e de forma semelhante ao isolado 12D, antes da entrada da câmara fria em dois carcaças, em abatedouros de suínos em Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Os relatos da presença de *Listeria monocytogenes* na indústria suína são frequentes e também estão associados à baixa detecção em carcaças suínas e também no ambiente e equipamentos dos abatedouros (MELONI *et al.*, 2013; ORTIZ *et al.*, 2010; CHERIFI *et al.*, 2020), ocorrendo o isolamento com maior frequência em cortes cárneos destinados ao processamento e em produtos processados prontos para o consumo, sendo a carne suína crua raramente implicada em surtos (MELONI *et al.*, 2013; KANUGANTI *et al.*, 2002; MORÁLES-PARTERA *et al.*, 2018). Pissetti *et al.* (2012) e Ferronato *et al.* (2012) sugerem que a contaminação por *Listeria monocytogenes* pode não ser de origem fecal. Apesar de no presente estudo não ter sido realizada a pesquisa da origem da contaminação por *Listeria monocytogenes*, muitos autores referem que a contaminação pode se originar da granja de criação, sendo veiculada mais pelas tonsilas do que pelas fezes, e transferidas, pelas facas e

vísceras no momento da evisceração, às carcaças e, por consequência, ao ambiente (AUTIO *et al.*, 2000; AUTIO *et al.*, 2004; HELLSTROM *et al.* (2010); SERENO *et al.*, 2019).

Dessa forma, assim como neste estudo, foram identificados isolados de *Listeria monocytogenes* por Pissetti *et al.* (2012) em carcaças suínas em Santa Catarina, Brasil. Martins *et al.* (2014) detectaram um isolado em carcaça suína após o resfriamento, em Santa Catarina, Brasil, diferentemente dos isolados 8C e 12D do presente estudo, que foram obtidos antes da etapa de resfriamento das carcaças. Santos *et al.* (2006), em estudo com carcaças suínas em Santa Catarina, identificaram a presença de *Listeria monocytogenes* em abatedouros clandestinos e inspecionados, obtendo mais isolados nos estabelecimentos clandestinos. Assim como no presente estudo, utilizaram a técnica de PCR para a detecção desse microrganismo.

O isolado 8C apresentou resistência antimicrobiana à eritromicina e ao meropenem, e sensibilidade à ampicilina e ao sulfazotrim. Já o isolado 12D apresentou resistência à eritromicina e ao sulfazotrim, e sensibilidade à ampicilina e ao meropenem. Realizando a interpretação de acordo com os parâmetros de *Staphylococcus* spp., o isolado 8C ainda apresentou resistência ao cloranfenicol e ambos os isolados apresentaram suscetibilidade à tetraciclina, à ciprofloxacina, à gentamicina e à sulfonamida.

A ampicilina sozinha ou combinada à gentamicina é a terapia de escolha para tratamento e como segunda opção, em casos de alergias e outras doenças, o trimetoprim/sulfametoxazol, a eritromicina, a vancomicina e as fluorquinolonas (TEMPLE e NAHATA, 2000). Desse modo, os isolados 8C e 12D demonstram não apresentar resistência à ampicilina, à tetraciclina e à gentamicina, não representando, portanto, um risco ao tratamento de infecções humanas. No entanto, ambos os isolados apresentaram resistência à eritromicina, outro antimicrobiano utilizado no tratamento, podendo ser um indicativo de início de resistência a este antimicrobiano pela *Listeria monocytogenes*. Diferentemente dos achados fenotípicos de sensibilidade antimicrobiana deste estudo, Sereno *et al.* (2019) em isolados de *Listeria monocytogenes* obtidos de superfícies da sala de desossa de suínos e de equipamentos e utensílios desta área, detectaram resistência à ampicilina e resistência intermediária à clindamicina em todos os isolados, e em três isolados resistência intermediária à penicilina e um ao sulfametoxazol-trimetoprim.

Diferentemente do presente estudo, Rodríguez-Lázaro *et al.* (2015) testaram diferentes antimicrobianos e identificaram 20 amostras positivas de *L. monocytogenes* em alimentos apreendidos no aeroporto internacional da Espanha, detectando resistência à clindamicina em todos os isolados, dois isolados resistentes à tetraciclina, um à ciprofloxacina e dois

multirresistentes. A tetraciclina e a ciprofloxacina também foram testadas no presente estudo, e os isolados apresentaram sensibilidade a ambos os antimicrobianos.

Moreno *et al.* (2014) detectaram sensibilidade aos antimicrobianos usualmente utilizados no tratamento da listeriose, quais sejam, a penicilina, ampicilina, gentamicina e trimetoprim-sulfametoxazol. Com exceção ao isolado 12D, que apresentou resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol, os isolados deste estudo apresentaram sensibilidade semelhante aos isolados de Moreno *et al.* (2014).

Nesta pesquisa foi possível identificar a presença de *Listeria monocytogenes* em carcaça suína no Distrito Federal, com resistência antimicrobiana à ampicilina, à eritromicina, ao meropenem, ao sulfazotrim e ao cloranfenicol. Tal achado é sugestivo de melhorias nos procedimentos sanitários operacionais e de higiene das instalações, de modo a evitar a formação de biofilmes e a perpetuação da contaminação da carcaça em diferentes lotes de abate, constituindo um risco à saúde dos consumidores.

5.7 Avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro* de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*

Foram testados 51 isolados de *Escherichia coli* para a avaliação da capacidade de formação de biofilme *in vitro*. Destes, 22 isolados eram do abatedouro frigorífico A e 29 do abatedouro frigorífico B. Também foram avaliados dois isolados de *Salmonella* spp. e dois isolados de *Listeria monocytogenes*, ambos oriundos do abatedouro frigorífico B, uma vez que não houve isolamento desses microrganismos no abatedouro frigorífico A.

Não houve diferença estatística na capacidade de formação de biofilmes quanto aos tempos de incubação para os três microrganismos, *Escherichia coli* ($P < 0,086$), *Salmonella* spp. ($P < 0,37$) e *Listeria monocytogenes* ($P < 0,89$).

Com relação à variação de temperaturas, verificou-se que à temperatura de 10 °C a capacidade de não formar biofilme por *Escherichia coli* foi maior quando comparada às demais faixas de temperatura, já a capacidade de formação moderada e forte de biofilme foi mais frequente a 37 °C e a 24 °C.

Quanto ao local da coleta no abatedouro, houve diferença estatística ($P < 0,0001$): a toaleta possui maior frequência de *Escherichia coli* não formadora de biofilme, enquanto a pós-evisceração apresenta maior frequência para a formação forte de biofilme.

Nos pontos isolados da carcaça, a *Escherichia coli* também apresentou diferença significativa ($P < 0,0001$), sendo que os isolados dos pontos/região da papada apresentaram

maior frequência quanto à capacidade de não formar biofilme, enquanto os isolados da região do pernil apresentaram maior frequência para a capacidade de formação forte de biofilme.

Vinte isolados de *Escherichia coli* que apresentaram algum dos fatores de virulência característicos para STEC, ou seja, os genes *stx1* e *stx2*, foram avaliados quanto à capacidade de formação de biofilme. Destes isolados, oito apresentaram capacidade de formação fraca ou de não formação nas diferentes temperaturas avaliadas (1E, 4D, 6B, 7E, 8A, 9A, 10C e 12D). Quatro isolados apresentaram capacidade moderada ou forte de formação de biofilme nas três temperaturas avaliadas (4A, 7A, 7B e 11A). Outros oito isolados (3E, 5D, 7C, 7D, 8B, 9C, 11D e 12A) apresentaram capacidades variadas de formação de biofilme de acordo com as temperaturas estudadas.

Dos onze isolados em que o gene *stx1* foi identificado, dois (1E e 6B) não apresentaram capacidade de formação de biofilme, dois (10C e 12D) apresentaram formação fraca e apenas um (4A) apresentou forte capacidade de formação de biofilme nas três temperaturas estudadas. Os outros seis isolados variaram a capacidade de formação de biofilme de acordo com as temperaturas estudadas.

Dois isolados de *Escherichia coli* com presença do gene *stx2* apresentaram capacidade fraca de formação de biofilme a 37 °C (3E e 9A) e dois de formação moderada à temperatura de 24 °C (8B e 9A). Dois isolados apresentaram capacidade moderada à temperatura de 37 °C (8B e 11A) e a 24 °C (3E e 11A) cada. Para o gene *stx2* não houve isolado não formador nas três temperaturas e formador forte nas temperaturas de 37 °C e 24 °C.

Avaliando-se os genes de virulência *stx1* e *stx2* juntos em um isolado e a capacidade de formação de biofilme, o isolado 8A foi formador fraco e o 7A foi formador forte nas três temperaturas estudadas. Os isolados 5D e 11D foram formadores fracos à temperatura de 10 °C e o isolado 9C, a 37 °C. A 24 °C, os isolados 9C e 11D apresentaram capacidade de formação de biofilme moderada. À temperatura de 37 °C, os isolados 5D e 11D apresentaram capacidade moderada de formação de biofilme, e o 11D também apresentou a 24 °C. E apresentaram forte capacidade de formar biofilme o isolado 5D a 24 °C e o isolado 9C a 10 °C.

Diferentemente dos resultados verificados neste estudo, Milan e Timm (2013), em STEC de origem bovina no Rio Grande do Sul, demonstraram que os isolados não foram capazes de formar biofilmes.

Avaliando-se os isolados com os genes de virulência, de acordo com a capacidade de formação de biofilme e a resistência antimicrobiana, pode-se inferir que os isolados 4A, 7A, 7B e 11A possuem os fatores causadores de doença, possuem capacidade formadora de biofilme moderada e forte em diferentes temperaturas e são multirresistentes. O isolado 5D também

possui os fenótipos de multirresistência, com capacidade formadora moderada a 37 °C e forte a 24 °C. Dessa forma, esses isolados são relevantes para a saúde pública. Corroborando esses resultados, Sanchez *et al.* (2013), avaliando isolados de amostras humanas, também detectaram isolados de *Escherichia coli* que apresentaram multirresistência e foram capazes de formar biofilmes.

Dessa forma, os resultados apresentados nesta primeira pesquisa sobre os genes de virulência de STEC em carcaças suínas no DF são relevantes por apresentarem isolados contendo os genes *stx1* e *stx2*, bem como fenótipos de multirresistência antimicrobiana.

Tabela 6 - Resistência antimicrobiana e capacidade de formação de biofilme para *Escherichia coli* contendo os genes de virulência *stx1* e *stx2*, em diferentes temperaturas, oriundas de carcaça suína dos abatedouros frigoríficos A e B.

| Isolados | Genes de Virulência | Capacidade de formação de biofilme | | | Resistência antimicrobiana |
|----------|---------------------|------------------------------------|-------|-------|---|
| | | 37 °C | 24 °C | 10 °C | |
| 1E | <i>stx1</i> | NF | NF | NF | AMO-AMP-ERI-EST-SUL |
| 3E | <i>stx2</i> | FF | FM | FF | AMO-AMP-ERI-EST-SUL-CLO-CIP |
| 4A | <i>stx1</i> | FFO | FFO | FFO | AMO-AMP-ERI-EST-SUL-CLO-NAL |
| 4D | <i>stx1</i> | FF | FF | NF | AMO-AMP-ERI-EST-SUL |
| 5D | <i>stx1, stx2</i> | FM | FFO | FF | AMO-AMP-ERI-EST-GEN-SUL-CLO-NAL-CIP |
| 6B | <i>stx1</i> | NF | NF | NF | AMO-AMP-ERI-EST-SUL-CLO-NAL |
| 7A | <i>stx1, stx2</i> | FFO | FFO | FFO | AMO-AMP-ERI-EST-SUL-DOX-TET-CLO |
| 7B | <i>stx1</i> | FM | FFO | FFO | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO-NAL |
| 7C | <i>stx1</i> | FM | FF | FF | EST-GEN-SUL-DOX-TET-CLO-NAL-CIP |
| 7D | <i>stx1</i> | FM | FM | FF | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO-NAL |
| 7E | <i>stx1</i> | FF | NF | NF | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO |
| 8A | <i>stx1, stx2</i> | FF | FF | FF | AMO-AMP-CFZ-CAZ-ERI-EST-DOX-TET-CLO-COL |
| 8B | <i>stx2</i> | FM | FF | FF | AMO-AMP-ERI-EST-DOX-TET-CLO-NAL |
| 9A | <i>stx2</i> | FF | FF | FF | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO-NAL-CIP |
| 9C | <i>stx1, stx2</i> | FF | FM | FFO | CAZ-COL |
| 10C | <i>stx1</i> | FF | FF | FF | CFZ-ERI-SUL-DOX-TET-CLO-NAL |
| 11A | <i>stx2</i> | FM | FM | FFO | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO-NAL |
| 11D | <i>stx1, stx2</i> | FM | FM | FF | AMO-AMP-EST-SUL-DOX-TET-CLO-NAL |
| 12A | <i>stx1</i> | FF | FM | FFO | AMO-AMP-ERI |
| 12D | <i>stx1</i> | FF | FF | FF | AMO-AMP-ERI-SUL |

NF = não formador; FF = fraco formador; FM = formador moderado; FFO = forte formador. AMO = amoxicilina, AMP = ampicilina, CFZ = cefazolina, CAZ = ceftazidima, ERI = eritromicina, EST = estreptomicina, GEN = gentamicina, SUL = Sulfonamida, DOX = doxiciclina, TET = tetraciclina, CLO = cloranfenicol, NAL = ácido nalidíxico, CIP = ciprofloxacina, COL = colistina.

Houve diferença significativa ($P < 0,0001$) para *Salmonella* spp. quanto à variação de temperatura, não apresentando capacidade de formar biofilme a 10 °C e de ser formadora fraca

a 24 °C e 37 °C, sem diferença estatística entre os pontos de coleta na carcaça ($P < 0,33$) e nos pontos de coleta do abate, neste caso, por terem sido isoladas na mesma etapa do processo tecnológico do abate.

Diferentemente desses resultados, Tadielo *et al.* (2022) obtiveram altas contagens de biofilme a 12 °C para *S. Typhimurium*, com maiores contagens após 96 horas e 120 horas. As altas contagens podem ser relacionadas à formação forte de biofilmes (DOIJAD *et al.*, 2015).

Piras *et al.* (2015), em estudo com isolados de *Salmonella enterica* em abatedouros frigoríficos de suínos na Itália, identificaram fraca capacidade de formação de biofilme em três isolados de carcaças incubados a 22 °C, assim como os isolados 7C e 7D incubados a 25 °C deste estudo. No entanto, os referidos autores identificaram outros dois isolados como não formadores de biofilme, um formador moderado e, incubados a 37 °C, todos os isolados foram não formadores de biofilme, diferente dos isolados do presente estudo, que foram fracos formadores (Tabela 8). Os autores italianos ainda observaram multirresistência antimicrobiana em dois isolados de carcaça, tal qual os isolados 7C e 7D.

Shi *et al.* (2018) também identificaram, em isolados de *Salmonella* de frangos saudáveis e doentes na China, multirresistência à ciprofloxacina, à cefotaxime, ao sulfametoxazol e à gentamicina, e sugeriram ter ocorrido a coexistência entre a formação de biofilme e a resistência antimicrobiana em *Salmonella*. No presente estudo, foi verificada multirresistência à tetraciclina, ao ácido nalidíxico, à ciprofloxacina, à ampicilina e à gentamicina. Sendo a multirresistência antimicrobiana um problema de saúde global, uma possível consequência da formação de biofilmes é a propagação da resistência a antimicrobianos e desinfetantes pelos microrganismos, mantendo-se por mais tempo no ambiente industrial, e consequentemente o aumento de bactérias multirresistentes (SHI *et al.*, 2018; JU *et al.*, 2018).

Nair *et al.* (2015), em estudo na Índia, com diferentes sorotipos de *Salmonella*, identificaram fraca capacidade de formação de biofilme na maioria dos isolados incubados a 37° C por 72 horas. Os resultados apresentados no presente estudo discordam dos referidos autores, uma vez que à temperatura 10 °C não foi identificada capacidade de formar biofilmes pelos isolados 7C e 7D, mesmo sem diferença significativa ($P < 0,37$) entre os tempos de incubação.

Os isolados formadores fracos não podem ser ignorados, uma vez que, com o tempo e o uso de desinfetantes e antibióticos nas granjas, podem adquirir novos traços genéticos, plasmídeos ou sofrer outras pressões externas que expandam seu potencial patogênico (Nair *et al.*, 2015).

A *Listeria monocytogenes* não apresentou isolados não formadores de biofilme e apresentou capacidade de formação fraca para biofilme à temperatura de 24 °C e à temperatura de 10 °C (tabela 8). Entretanto, apresentou capacidades moderada e fraca para a formação de biofilme a 37 °C. Não houve diferença estatística entre os pontos da coleta no abate e após a lavagem final, antes do resfriamento, nem entre os pontos isolados na carcaça ($P < 0,89$).

Tabela 7 - Resultados da formação de biofilme dos isolados de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* das carcaças de suínos do abatedouro frigorífico B, de acordo com Stepanović *et al.* (2000).

| Isolados | Microrganismo | 37 °C | 24 °C | 10 °C |
|----------|-------------------------------|-------|-------|-------|
| 7C | <i>Salmonella</i> spp. | FF | FF | NF |
| 7D | <i>Salmonella</i> spp. | FF | FF | NF |
| 8C | <i>Listeria monocytogenes</i> | FM | FF | FF |
| 12D | <i>Listeria monocytogenes</i> | FF | FF | FF |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme.

Ripolles-Avila *et al.* (2022), tal qual neste estudo, não detectaram diferença entre os tempos de incubação de *Listeria monocytogenes* na formação de biofilmes *in vitro*.

De acordo com Doijad *et al.* (2015), a quantidade de células identificadas em um biofilme é diretamente proporcional à força do biofilme. Dessa forma, de modo similar ao presente estudo, Tadielo *et al.* (2022) também identificaram maior formação de biofilme por *Listeria monocytogenes* a 37 °C, ou seja, forte formação a essa temperatura, no entanto esses autores identificaram diferenças quanto ao tempo de incubação, com maiores contagens a 37 °C após 24 horas e a 12 °C após 96 horas.

Diferentemente do achado neste estudo, Lezzoum-Atek, Bouayad e Hamdi (2019) encontraram diferença nos tempos de incubação para a formação de biofilme de *Listeria monocytogenes*, sendo mais importante após 72 horas de incubação.

Di Bonaventura *et al.* (2007) identificaram que o desenvolvimento do biofilme de *Listeria monocytogenes* varia de acordo com a temperatura e demonstraram que, a 20 °C e a 37 °C, o biofilme formado exibe complexa organização, e, às temperaturas de 4 °C e 12 °C, há uma produção rudimentar de biofilme, podendo-se comparar esses resultados a uma formação forte e fraca de acordo com as temperaturas. Dessa forma, os resultados desses autores para as temperaturas mais baixas corroboram os resultados do presente trabalho, em que foi detectada formação fraca de biofilme a 10°C, mas diverge das temperaturas de 24 °C e 37 °C, em que foram detectadas fraca e moderada formação de biofilme, respectivamente.

Este é o primeiro trabalho no Brasil a avaliar conjuntamente a capacidade de formação de biofilmes e a resistência antimicrobiana de *Listeria monocytogenes* e de *Salmonella* spp. isoladas de carcaças suínas, e a demonstrar a multirresistência antimicrobiana em isolados de *Escherichia coli* com variadas capacidades de formação de biofilme em isolados de STEC, confirmados pela presença dos genes de virulência *stx1* e *stx2*, sendo, dessa forma, dados relevantes para a saúde pública.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi possível realizar as contagens de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* e Coliformes totais nas carcaças de suínos, as quais se mostraram pertinentes como controles de qualidade entre as etapas do processamento de abate, revelando em quais etapas ocorrem as maiores contaminações, sugerindo que medidas sejam tomadas para que se tenha um controle da contaminação da carcaça nas etapas do abate.

Foi demonstrada alta multirresistência antimicrobiana nos isolados de *Escherichia coli*, também foi identificada multirresistência nos isolados de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* pela caracterização fenotípica por técnica de disco difusão. Além disso, foi verificada alta sensibilidade aos antimicrobianos colistina e ceftazidima, esta uma cefalosporina de 3ª geração, considerados criticamente importantes para tratamentos de infecções bacterianas graves em humanos pela OMS. No entanto, já existe resistência às quinolonas e macrolídeos nos isolados, como o ácido nalidíxico e a eritromicina, que também compõem a lista da OMS, portanto um alerta ao uso de antimicrobianos em animais.

Nos isolados de *Escherichia coli*, foram isolados genes de virulência para STEC, ou seja, os genes *stx1* e *stx2*, em grande número, contendo ou não o gene da intimina *eae*, que pode potencializar a virulência das cepas. Outro fator também identificado e que pode vir a potencializar a virulência, além de manter tais genes persistentes e, também, disseminá-los juntamente com a multirresistência no meio, é a capacidade de formar biofilmes, a qual foi variada em diferentes temperaturas, havendo poucos não formadores.

Nos isolados de *Salmonella* spp., a fraca capacidade de formar biofilmes *in vitro* não elimina seu potencial de disseminação de multirresistência, especialmente em condições naturais. Nos isolados de *Listeria monocytogenes*, mesmo não tendo ocorrido multirresistência em ambos os isolados e apresentando sensibilidade aos antimicrobianos utilizados no tratamento da listeriose humana, há fraca formação de formar biofilmes.

A presença desses patógenos juntamente com as contagens dos microrganismos indicadores deste estudo refletem as condições higiênicas do abatedouro e do processo tecnológico do abate nos estabelecimentos avaliados.

Sendo este o primeiro estudo de caracterização microbiana em carcaças de suínos no DF, os dados apresentados demonstram a presença dos genes de virulência *stx1* e *stx2* em *Escherichia coli* e presença de multirresistência neste microrganismo, o que também foi observado em *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Tanto a identificação de patógenos

como a de genes de virulência podem representar risco para a saúde pública, tendo em vista estarem presentes nas diferentes etapas do processamento tecnológico do abate.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. **J of Trop Med.**, [s. l.], 2020, NA, DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/4674235> Disponível em: <<https://link.gale.com/apps/doc/A636435725/AONE?u=capes&sid=bookmark-AONE&xid=cc43778b>> Acesso em: 12 jan. 2022.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas **ABNT NBR ISO 21528-2:2020**: Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos – Método horizontal para detecção e enumeração de Enterobacteriaceae Parte 2: Método de contagem de colônias. 1ª. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2020.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. Disponível em: <<http://www.abpa-br.org/relatorios/>> Acesso em: 03 jan. 2022.
- ADELL, A.D.; RIVERA, D.; DÍAZ, C.; SERRANO, M.J.; TOLEDO, V; SWITT, A.I.M. Research on major water and foodborne pathogens in South America: advancements and gaps. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v.20, pp.38-43, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.03.001>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799317300693>> Acesso em: 15 mai. 2019.
- ALVAREZ, J.; SOTA, M.; VIVANCO, A.B.; PERALES, I.; CISTERNA, R.; REMENTERIA, A.; GARAIZAR, J. Development of a Multiplex PCR Technique for Detection and Epidemiological Typing of *Salmonella* in Human Clinical Samples. **J Clin Microbiol.**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 1734-1738, Apr. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC387595/>> Acesso em: 12 abr. 2022.
- AUTIO, T.; MARKKULA, A.; HELLSTRÖM, S.; NISKANEN, T.; LUNDÉN, J.; KORKEALA, H. Prevalence and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* in the tonsils of pigs. **J Food Prot.**, [s. l.], 67(4):805-8p. Apr. 2004. DOI: 10.4315/0362-028x-67.4.805. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15083735/>> Acesso em: 01 ago. 2022.
- AUTIO, T.; SÄTERI, T.; FREDRIKSSON-AHOMAA, M.; RAHKIO, M.; LUNDÉN, J.; KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **J Food Prot.**, [s. l.] 63(10):1438-42, Oct. 2000. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.10.1438> Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11041148/>> Acesso em: 19 jul. 2022.
- BARCO, L.; BELLUCO, S.; ROCCATO, A.; RICCI, A. A systematic review of studies on *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* on beef carcasses at the slaughterhouse. **Int J Food Microbiol.**, [s. l.], v.207, p.30-39. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.027>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160515002305?via%3Dihub>> Acesso em: 19 jan. 2019.

BARCO, L.; BELLUCO, S.; ROCCATO, A.; RICCI, A. *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* counts on pig and ruminant carcasses along the slaughterline, factors influencing the counts and relationship between visual faecal contamination of carcasses and counts: a review. **EFSA supporting publication 2014:EN-634**, Parma- Italy, 111pp. 2014. Disponível em: <www.efsa.europa.eu/publications> Acesso em: 12 jan. 2022.

BARRETO, E. H. **Controle da qualidade sanitária em frigorífico de suínos do Paraná**. 2017. 89 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2672>> Acesso em: 07 mar. 2019.

BELLUCO, B.; BARCO, L.; ROCCATO, A.; RICCI, A. Variability of *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* counts on pig carcasses: A systematic review. **Food Control**, [s. l.] v.55, pp.115-126. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.042>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515001358?via%3Dihub>> Acesso em: 17 jan. 2022.

BIASINO, W.; DE ZUTTER, L.; MATTHEUS, W.; BERTRAND, S.; UYTENDAELE, M.; VAN DAMME, I. Correlation between slaughter practices and the distribution of *Salmonella* and hygiene indicator bacteria on pig carcasses during slaughter. **Food Microbiology**. [s. l.] v. 70, pp. 192-199, ISSN 0740-0020. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.10.003>. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29173627/#:~:text=Positive%20relations%20were%20found%20between,hygiene%20indicator%20bacteria%20and%20Salmonella>> Acesso em: 10 jan. 2022.

BIELASZEWSKA, M.; MELLMANN, A.; BLETZ, S.; ZHANG, W.; KÖCK, R.; KOSSOW, A.; PRAGER, R.; FRUTH, A.; ORTH-HÖLLER, D.; MAREJKOVÁ, M.; MORABITO, S.; CAPRIOLI, A.; PIÉRARD, D.; SMITH, G.; JENKINS, C.; CUROVÁ, K.; KARCH H. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a new virulent clone emerges in Europe. **Clin Infect Dis.**, [s. l.] 56(10):1373-81, May. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cit055>. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23378282/>> Acesso em: 12 ago. 2022.

BISCHOFF, K.M.; WHITE, D.G.; HUME, M.E.; POOLE, T.L.; NISBET, D.J. The chloramphenicol resistance gene *cmlA* is disseminated on transferable plasmids that confer multiple-drug resistance in swine *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol Lett.** [s. l.] 1;243(1):285-91p. Feb. 2005. DOI: 10.1016/j.femsle.2004.12.017 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15668031/>> Acesso em: 30 nov. 2021.

BISCHOFF, K.M.; WHITE, D.G.; MCDERMOTT, P.F.; ZHAO, S.; GAINES, S.; MAURER, J.J.; NISBET, D.J. Characterization of chloramphenicol resistance in beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in neonatal swine. **J Clin Microbiol.** [s. l.] 40(2):389-94p. Feb. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.40.2.389-394.2002>. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11825947/>> Acesso em: 30 nov. 2021.

BOHAYCHUK, V.M.; GENSLER, G.E.; BARRIOS, P.R. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. **Can Vet J**,

[s. l.], v. 52: 1095-1100p. Oct. 2009. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174505/>> Acesso em: 01 mar. 2019.

BOLTON, D.J.; PEARCE, R.A.; SHERIDAN, J.J.; BLAIR, I.S.; MCDOWELL, D.A.; HARRINGTON, D. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **J Appl Microbiol**, [s. l.], 92(5), 893–902p. 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01599.x. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11972694/>> Acesso em: 09 jun. 2020.

BORGES, K.A.; FURIAN, T.Q.; SOUSA, S.S.; MENEZES, R.; TONDO, E.C.; SALLES, C.T.P.; MORAES, H.L.S.; NASCIMENTO, V.P. Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 71-76, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4928>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pvb/a/y9q4vRZdy59f4m7HH9NY3CR/?lang=en>> Acesso em: 25 jan. 2022.

BOUVET, J.; MONTET, M.P.; ROSSEL, R.; LE ROUX, A.; BAVAI, C.; RAY-GUENIOT, S.; MAZUY, C.; ATRACHE, V.; VERNOSY-ROZAND, C. Effects of slaughter processes on pig carcass contamination by verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7. **Int J Food Microbiol.**, [s. l.], v. 25;77(1-2):99-108p., Jul. 2002. DOI: 10.1016/s0168-1605(02)00053-3. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12076043/>> Acesso em: 31 out. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 32, n.5. Brasília, DF: Ministério da Saúde. ago. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2020/boletim-epidemiologico-svs-32.pdf/view>> Acesso em: 29 jul. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Perguntas & respostas padrões microbiológicos**. 4ª. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde. ago. 2021a. Disponível em:
<<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e-respostas-arquivos/padroes-microbiologicos.pdf/view>> Acesso em 11 jan. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021**. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2021b. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_24_05_2021_rep.html> Acesso em: 06 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 09**, de 27 de junho de 2003. Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos->

alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-9-de-27-de-junho-de-2003.pdf>
Acesso em: 10 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 09, de 08 de abril de 2009**. Institui os Procedimentos de Controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/in_09-_de_8_de_abril_de_2009.pdf> Acesso em: 25 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 22 de novembro de 2016**. Restringe o uso do Sulfato de Colistina. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-45-de-22-de-novembro-de-2016.pdf/view>> Acesso em: 10 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 60, de 20 de dezembro de 2018**. Estabelece o controle microbiológico em carcaça de suínos e em carcaça e carne de bovinos em abatedouros frigoríficos, registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), com objetivo de avaliar a higiene do processo e reduzir a prevalência de agentes patogênicos. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/56641896> Acesso em: 20 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Coleta de Amostras de Produtos de Origem Animal**. 2017. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2017. Disponível em: <<https://wikisda.agricultura.gov.br/pt-br/Inspeção-Animal/Manual-de-coleta-de-amostras-de-produtos-de-origem-animal>> Acesso em: 14 mar. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 711, de 1º de novembro de 1995**. Aprova as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1995. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/arquivos/Portaria7111995alteradaportarian13042018.pdf/view>> Acesso em: 24 mar. 2019.

BRUSTOLIN, J.C; DAL PISOL, A.; STEFFENS, J.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; DI LUCCIO, M.; CANSIAN, R. L. Decontamination of Pig Carcasses Using Water Pressure and Lactic Acid. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, [s. l.], v.57 n.6: pp. 954-961, Nov/Dec. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402363> Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/babt/a/ByJGpJZWJphZh75rqcNS6hd/?lang=en>> Acesso em: 08 jun. 2022.

BRYANT, J., BRERETON, D. A., & GILL, C. O. (2003). Implementation of a validated HACCP system for the control of microbiological contamination of pig carcasses at a small

abattoir. **Can Vet J.**, [s. l.], 4(1), 51e55p. Jan. 2003. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12619556/>> Acesso em: 04 ago. 2021.

BUNCIC, S; SOFOS, J. Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International.**, [s. l.], 45(2): 641-655. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.018> Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911005941?via%3Dihub>>
Acesso em: 18 jan. 2022.

CABRAL, C.C.; PANZENHAGEN, P.H.N; DELGADO, K.D.; GABRIELA, R.A.S.; RODRIGUES, D.P.; FRANCO, R.M.; CONTE-JUNIOR, C.A. Contamination of Carcasses and Utensils in Small Swine Slaughterhouses by *Salmonella* in the Northwestern Region of the State of Rio de Janeiro, Brazil. **J Food Prot.**, [s. l.], 80(7): pp.1128-1132, Jun. 2017. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-387> Disponível em:
<<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/80/7/1128/174197/Contamination-of-Carcasses-and-Utensils-in-Small>> Acesso em: 09 jun. 2021.

CÊ, Elton Rodrigo. **Influências das etapas do processo de abate de suínos na prevalência de patógenos e níveis de microrganismos indicadores de qualidade e higiene.** Londrina. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica do Paraná, Paraná, 2016. 81f., il. Disponível em: <<https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1665>>
Acesso em: 07 mar. 2019.

CHASSAGNE, L.; PRADEL, N.; ROBIN, F.; LIVRELLI, V.; BONNET, R.; DELMAS, J. Detection of stx1, stx2, and eae genes of enterohemorrhagic *Escherichia coli* using SYBR Green in a real-time polymerase chain reaction. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [s. l.], v.64, Issue 1, pp. 98-101. 2009, ISSN 0732-8893 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.01.031 Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19362260/>> Acesso em: 10 ago. 2021.

CHERIFI, T.; ARSENAULT, J.; PAGOTTO, F.; QUESSY, S.; CÔTÉ, J-C.; NEIRA, K.; FOURNAISE, S.; BEKAL, S.; FRAVALO, P. Distribution, diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in swine slaughterhouses and their association with food and human listeriosis strains. **PLoS ONE**, [s. l.], 15(8): e0236807. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236807>. Disponível em:
<<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0236807>> Acesso em: 22 jul. 2022.

CHINA, B.; PIRSON, V.; MAINIL, J. Typing of Bovine Attaching and Effacing *Escherichia coli* by Multiplex In Vitro Amplification of Virulence-Associated Genes. **Appl Environ Microbiol.**, [s. l.], v. 62, n.9, Sept. 1996, p. 3462–3465 DOI: 10.1128/aem.62.9.3462-3465.1996 Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.62.9.3462-3465.1996>>
Acesso em: 20 abr. 2019.

CHOI, Y.; KIM, Y.T.; YOU, J. B.; JO, S.H.; LEE, S. J.; IM, S.G.; LEE, K.G. An efficient isolation of foodborne pathogen using surface-modified porous sponge. **Food Chemistry.**, [s. l.], v. 270, p. 445-451, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.125>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618312731?via%3Dihub>>
Acesso em: 04 jun. 2019.

CHOI, Y.M.; PARK, H.J.; JANG, H.I.; KIM, S.A.; IMM, J.Y.; HWANG, I.G.; RHEE, M.S. Changes in microbial contamination levels of porcine carcasses and fresh pork in slaughterhouses, processing lines, retail outlets, and local markets by commercial distribution. **Research in Veterinary Science**, [s. l.], v. 94, Issue 3, p. 413-418, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.11.015>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528812003487?via%3Dihub>> Acesso em: 20 set. 2020.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; **CLSI document M02-A11**. 11st. ed., Wayne, PA, 2012. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=58139aa4615e27240754da03&asSetKey=AS%3A422233756704774%401477679780485>> Acesso em: 11 out. 2020.

CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, **CLSI M100-ED31:2021**, 31st ed. Wayne, PA 2021. Disponível em: <<http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20M100%20ED32:2022&sbssok=CLSI%20M100%20ED32:2022%20TABLE%20A&format=HTML#CLSI%20M100%20ED32:2022%20TABLE%20A>> Acesso em: 11 nov. 2021.

CORBELLINI, L.G.; JÚNIOR, A.B.; COSTA, E. de F.; DUARTE, A.S.; ALBUQUERQUE, E.R.; KICH, J.D.; CARDOSO, M.; NAUTA, M. Effect of slaughterhouse and day of sample on the probability of a pig carcass being *Salmonella*-positive according to the *Enterobacteriaceae* count in the largest Brazilian pork production region. **Int J Food Microbiol.**, [s.l.] 2;228:58-66, jul. 2016. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.030. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27107299/>> Acesso em: 24 mar. 2019.

COSTA, E. de F.; CARDOSO, M.; KICH, J. D.; CORBELLINI, L. G. A qualitative risk assessment approach to microbial foodborne hazard. **Microbial Risk Analysis**, v.15, 1000105, Aug. 2020. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.mran.2020.100105>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352352220300116?via%3Dihub>> Acesso em: 22 nov. 2021.

DAVANZO, E. F. A.; dos SANTOS, R. L.; CASTRO, V. H. de L.; PALMA, J. M.; PRIBUL, B. R.; DALLAGO, B. S. L.; FUGA, B.; MEDEIROS, M.; ALMEIDA, S. S. T. de; DA COSTA, H. M. B.; RODRIGUES, D. dos P.; LINCOPAN, N.; PERECMANIS, S.; SANTANA, A.P. Molecular characterization of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* strains from biofilms in cattle and poultry slaughterhouses located in the federal District and State of Goiás, Brazil. **PLoS ONE**, [s.l.] 16(11): e0259687. 12 nov. 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0259687. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0259687>> Acesso em: 10 jan. 2022.

DI BONAVENTURA, G.; PICCOLOMINI, R.; PALUDI, D.; D'ORIO, V.; VERGARA, A.; CONTER, M.; IANIERI, A. Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria*

monocytogenes on various food-contact surfaces: relationship with motility and cell surface hydrophobicity. **J Appl Microbiol.**, [s.l.] 104(6):1552-61, jun. 2008 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03688.x Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2007.03688.x>> Acesso em: 25 jan. 2022.

DJORDJEVIC, D.; WIEDMANN, M.; MCLANDSBOROUGH, L.A. Microtiter Plate Assay for Assessment of *Listeria monocytogenes* Biofilm Formation. **Appl Environ Microbiol**, [s.l.], v.68, n.6, p. 2950–2958, jun. 2002. DOI: 10.1128/AEM.68.6.2950-2958.2002 Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.68.6.2950-2958.2002>> Acesso em: 21 jul. 2021.

DOIJAD, S.P.; BARBUDDHE, S.B.; GARG, S.; POHARKAR, K.V.; KALOREY, D.R.; KURKURE, N.V.; RAWOOL, D.B.; CHAKRABORTY, T. Biofilm-Forming Abilities of *Listeria monocytogenes* Serotypes Isolated from Different Sources. **PLoS ONE**, [s.l.], 10(9): e0137046. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137046> Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0137046>> Acesso em: 21 nov. 2021.

DRUMMOND, V.O.; PERECMANIS, S. Genes de enterotoxinas e perfil antimicrobiano de *Escherichia coli* isoladas de suínos hígidos no Distrito Federal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [online], v. 65, n. 4, pp. 1005-1009, ago. 2013. DOI: <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000400010>>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/59fTNW8zxr4QMr9ScghcqC/?lang=pt>> Acesso em: 22 set. 2021.

DUCAS, C. T.; HIRANO, L.Q.L; NASCIMENTO, C.C.N.; MOREIRA, M. D. Análise microbiológica de carcaças suínas em frigorífico de Uberlândia, MG. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 39, Ed. 144, Art. 970, 2010. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/artigo/2556/anaacutelise-microbioloacutegica-de-carcaccedilas-suiacutenas-em-frigoriacutefico-de-uberlacirendia-mg>> Acesso em: 07 mar 2019.

DUCAS, C.T.S.; SILVA, L.F. Pesquisa de *Salmonella* spp. e enumeração de coliformes totais e termotolerantes em carcaça de suínos abatidos em matadouro frigorífico de Uberlândia, Minas Gerais. **Vet. Not.**, Uberlândia, v.17. n.1, p. 54-61, jan./jun. 2011. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/18927>> Acesso em: 10 jul 2022.

EFSA. European Food Safety Authority. Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. **EFSA Journal**, [s.l.];18(3):6007, 166 p. 2020. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6007>. Disponível em: <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2020.6007>> Acesso em: 15 dez. 2021.

EUCAST. European Food Safety Authority and ECDC, European Centre for Disease European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **EUCAST**. Clinical breakpoints - bacteria. Versão 11.0. 2021. [online] Disponível em:

<https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/> Acesso em: 11 nov. 2021.

FAO/WHO Expert Consultation. Risk assessment of microbiological hazards in foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Geneva, Switzerland 15-19 March 1999. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/65973>> Acesso em: 26 jan. 2022.

FAO/WHO. Guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance (CAC/GL 77-2011). [online] 2011. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXG%2B77-2011%252FCXG_077e.pdf> Acesso em: 10 jan. 2022.

FAO/WHO. Guidelines for the control of nontyphoidal *Salmonella* spp. in beef and pork meat (CAC/GL 87-2016). [online] 2016. Disponível em: <<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/all-standards/en/>> Acesso em: 10 jan. 2022.

FAO/WHO/OIE. Expert meeting on critically important antimicrobials. Report of the FAO/WHO/OIE Expert Meeting. FAO Headquarters, Rome, Italy, 67p., 2008. Disponível em: <<https://www.fao.org/publications/card/es/c/3c566f76-caa8-5125-bb06-19f08dc27550/>> Acesso em: 19 mar. 2022.

FERRONATTO, A.I.; PELLEGRINI, D.C.P; GUERRA, P.; CARDOSO, M.R.I. Distribuição de grupos clonais de *Listeria monocytogenes* em carcaças e no ambiente de matadouros frigoríficos de suínos. Arch Vet Sci, [s.l.], v. 17, n. 3, aug. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v17i3.24940>. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/24940>> Acesso em: 22 mar. 2022.

FREITAS, C.G.; SANTANA, A.P.; SILVA, P.H.C.; GONÇALVES, V.S.P.; BARROS, M.A.F.; TORRES, F.A.G.; MURATA, L.S.; PERECMANIS, S. PCR multiplex for detections of *Salmonella* Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. **Int J Food Microbiol.**, [s.l.] v. 139, p. 15-22, 30 apr. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.007>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510000887?via%3Dihub>> Acesso em: 25 jul. 2019.

FRIEDERICH, A.W.; BIELASZEWSKA, M.; ZHANG, W.L.; PULZ, M.; KUCZIUS, T.; AMMON, A.; KARCH, H. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. **J Infect Dis.** [s.l.] 1;185(1):74-84, 1 jan. 2002. DOI: 10.1086/338115 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11756984/>> Acesso em: 14 mai 2022.

GALES, A.C.; REIS, A.O.; JONES, R.N. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. **J Clin Microbiol**, [s.l.], p. 183–190 Vol. 39, No. 1, Jan. 2001. DOI: 10.1128/JCM.39.1.183-190.2001 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11136768/>> Acesso em: 21 jul. 2020.

GAMARRA, R. M. **Identificação de pontos críticos para Salmonella spp. no abate de suínos**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria – RS. 52f. 2007.

GEMEDA, B. A.; ASSEFA, A.; JALETA, M. B.; AMENU, K.; WIELAND, B. Antimicrobial resistance in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis of prevalence in foods, food handlers, animals, and the environment. **One Health**, [s.l.], v.13, 100286, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100286>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771421000768?via%3Dihub>> Acesso em: 22 set. 2021.

GHAFIR, Y.; CHINA, B.; DIERICK, K.; ZUTTER, L. DE; DAUBE, G. Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef, Pork, and Poultry Meats in Belgium. **J Food Prot.** [s.l.], Vol. 71, No. 1, p.35–45. 2008. Disponível em: http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/71/1/35/1682077/0362-028x-71_1_35.pdf> Acesso em: 25 Jan 2022.

GYLES, C.L. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci.* [s.l.]; 85(13 Suppl):E45-62. mar. 2007. DOI: 10.2527/jas.2006-508 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17085726/>> Acesso em: 03 ago. 2021.

HERNÁNDEZ, M.; GÓMEZ-LAGUNA, J.; LUQUE, I.; HERRERA-LEÓN, S.; MALDONADO, A.; REGUILLO, L.; ASTORGA, R.J. *Salmonella* prevalence and characterization in a free-range pig processing plant: Tracking in trucks, lairage, slaughter line and quartering. **Int J Food Microbiol.** [s.l.], v.162, Issue 1, pp. 48-54. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.026> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160513000056?via%3Dihub>>. Acesso em: 07 fev. 2022.

HUANG, X.; YU, L.; CHEN, X.; ZHI, C.; YAO, X.; LIU, Y.; WU, S.; GUO, Z.; YI, L.; ZENG, Z.; LIU, J-H. High Prevalence of Colistin Resistance and mcr-1 Gene in *Escherichia coli* Isolated from Food Animals in China. **Front. Microbiol.** [s.l.], 8:562. 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00562 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28421056/>> Acesso em: 26 ago. 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2020**; Rio de Janeiro: IBGE, 2021. [online]. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/brasil/df/brasil/pesquisa/18/16459>>. Acesso em: 04 jan. 2022.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - **ISO 6579:2002** - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. 27 p. 2014.

JAJA, I.F.; GREEN, E.; MUCHENJE, V. Aerobic Mesophilic, Coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* Counts of Raw Meat from the Formal and Informal Meat Sectors in South Africa. **Int. J. Environ. Res. Public Health** [s.l.], 15, 819. 2018. DOI:

<https://doi.org/10.3390/ijerph15040819> Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/15/4/819>> Acesso em 20 mar. 2019.

JEANNOT, K.; BOLARD, A.; PLÉSIA, T. P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. **Int J Antimicrob Agents**. [s.l.], 49(5):526-535. May 2017. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.11.029 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857917300328?via%3Dihub>> Acesso em: 14 mai. 2019.

JIANG, H.X.; LÜ, D.H.; CHEN, Z.L.; XIU-MEI WANG, X.M.; CHEN, J.R.; LIU, Y.H.; XIAO-PING LIAO, X.P.; JIAN-HUA LIU, J.H.; ZENG, Z.L. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. **Vet J**, [s.l.] v.187, Issue 1, pp. 99-103. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.017> Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023309004225?via%3Dihub>> Acesso em: 27 jul. 2021.

JU, X.; LI, J.; ZHU, M.; LU, Z.; LV, F.; ZHU, X.; BIE, X. Effect of the luxS gene on biofilm formation and antibiotic resistance by *Salmonella* serovar Dublin. **Food Research International**, [s.l.], v.107, p.385-393, ISSN 0963-9969, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.02.039 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29580499/>> Acesso em: 26 mai. 2022.

KANUGANTI, S.R.; WESLEY, I.V.; REDDY, P.G.; MCKEAN, J.; HURD, H.S. Detection of *Listeria monocytogenes* in pigs and pork. **J Food Prot**. [s.l.], 65(9):1470-4. sep. 2002. DOI: 10.4315/0362-028x-65.9.1470. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12233860/>> Acesso em: 22 jun. 2022.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol**. [s.l.], 2(2):123-40. feb. 2004. DOI: 10.1038/nrmicro818. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15040260/>> Acesso em: 14 mar. 2022.

KASE, J.A.; ZHANG, G.; CHEN, Y. Recent foodborne outbreaks in the United States linked to atypical vehicles — lessons learned. **Current Opinion in Food Science** [s.l.], 18:56–63, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.014>. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799317300528>> Acesso em: 21 fev. 2022.

KEMPF, I.; JOUY, E.; CHAUVIN, C. Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. **Int J Antim Agents**, [s.l.], 48(6):598-606. dec. 2016 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857916303089> Acesso em: 14/05/2019.

KÉROUANTON, A.; MARAULT, M.; PETIT, L.; GROUT, J.; DAO, T.T.; BRISABOIS, A. Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. **J Microbiol Methods**, [s.l.], 80(2):134-7. Feb. 2010. DOI: 10.1016/j.mimet.2009.11.008 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19958798/>> Acesso em: 10 abr. 2020.

KICH, J. D. & CARDOSO, M. Controle de *Salmonella* em suínos: situação atual e estratégias baseadas na relação hospedeiro-patógeno. **Suinocultura industrial**. Itu, ed. 250, ano 35, n 1, p.14-20, 2013. Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/971709>> Acesso em: 10 jan. 2022

KICH, J. D.; SOUZA, A. I. A.; MONTES, J.; MENEGUZZI, M.; COSTA, E.F.; COLDEBELLA, A.; CORBELLINI, L. G.; CARDOSO, M. Investigation of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* in pig carcasses in Southern Brazil. **Pesq Vet Bras**. Rio de Janeiro, 40(10):781-790, oct. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6628>. Disponível em: Acesso em: 12 jan. 2022.

KICH, J.D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M.G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P.M.; CALL, J.E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J.B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **Int J Food Microbiol.**, [s.l.], v.151, Issue 3, pp.307-313. 2011. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.024 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22024043/>> Acesso em: 06 fev 2022.

KIM, H.; BAEK, H.; LEE, S.; JANG, Y.; JUNG, S.; KIM, A.; CHOE, N. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolated from pigs at slaughterhouses in Korea. **African Journal of Microbiology Research**. [s.l.], v.1 5(7) pp. 823-830, 4 apr. 2011. DOI: 10.5897/AJMR10. Disponível em: <<https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/192AA9322471>> Acesso em: 04 jul. 2022.

LEZZOUM-ATEK, S.; BOUAYAD, L.; HAMDI, T.M. (2019) Influence of some parameters on the ability of *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, and *Escherichia coli* to form biofilms, **Vet World**, [s.l.] 12(3): 459-465. 2019. DOI: 10.14202/vetworld.2019.459-465 Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6487244/>> Acesso em: 25 ago. 2022.

LIBERA, K.; KONIECZNY, K.; GRABSKA, J.; SZOPKA, W.; AUGUSTYNIAK, A.; POMORSKA-MÓL, M. Selected Livestock-Associated Zoonoses as a Growing Challenge for Public Health. **Infect. Dis. Rep.** [s.l.], 14,63–81, 2022. DOI: 10.3390/idr14010008 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35076534/>> Acesso em: 09 ago. 2021.

LIMA, G. J. M. M. DE. Estratégias no auxílio da redução do uso de antimicrobianos na produção de suínos. **Revista Científica de Produção Animal**, [s.l.] v. 20, n. 1, p. 31-37, 13. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/2176-4158/rcpa.v20n1p31-37> Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1100750/estrategias-no-auxilio-da-reducao-do-uso-de-antimicrobianos-na-producao-de-suinos>> Acesso em: 30 out. 2021.

LIU, Y.Y.; WANG, Y.; WALSH, T. R.; YI, L. X.; ZHANG, R.; SPENCER, J.; DOI, Y.; TIAN, G.; DONG, B.; HUANG, X.; YU, L. F.; GU, D.; REN, H.; CHEN, X.; LV, L.; HE, D.; ZHOU, H.; LIANG, Z.; LIU, J. H.; SHEN, J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.] v. 16, n. 2, p. 161–168,

2016. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7). Disponível em:
<[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(15\)00424-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(15)00424-7/fulltext)>.
Acesso em: 14 mai 2019.

MACHADO, L.A.P.; LUCCA, F.; ALVES, J.; POZZOBON, A.; BUSTAMANTE-FILHO, I.C. Prevalência e genotipagem de *Escherichia coli* patogênica em carcaças de suínos abatidos em frigoríficos comerciais na Região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. [s.l.], v.8, n.1, pp. 128 – 145, jan/mar. 2014 Disponível em:
<<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/137>> Acesso em: 04 jul. 2020.

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D.L.; RICE, L.B.; STELLING, J.; STRUELENS, M.J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin Microbiol Infect**. [s.l.], 18(3):268-81. mar. 2012. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21793988/>> Acesso em: 18 mai. 2022.

MANDAL, P. K.; BISWAS, A. K.; CHOI, K.; PAL, U. K. Methods for rapid detection of foodborne pathogens: an overview. **American Journal of Food and Technology**. [s.l.], 6(2): 87-102. 2011. DOI: 10.3923/ajft.2011.87.102 Disponível em:
<<https://scialert.net/abstract/?doi=ajft.2011.87.102>> Acesso em: 18 jun. 2019.

MANGAL, P.; RAO, R.; JOSHI, R. Isolation, identification and antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* in raw pork: A cross sectional study. **J Entomol Zool Stud.**, [s.l.], 6(2): 395-398. 2018. Disponível em:
<<https://www.entomoljournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=2&ArticleId=3220>> Acesso em: 21 out. 2021.

MARTINS, T.S.; DEGENHARDT, R.; THALER, A.; DALMINA, K.; MELO, F.; FERRAZ, S. Pesquisa e quantificação de *Listeria* sp. em carcaças suínas antes e após o processo de resfriamento em câmara fria. **Arch Vet Sci**[s.l.], v. 19, n. 3, aug. 2014. ISSN 2317-6822. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v19i3.32336>. Disponível em:
<<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/32336>>. Acesso em: 29 jun. 2022.

MATSUBARA, Esther Naomi. **Condição higiênico-sanitária de meias-carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise da utilização de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos**. 2005. 152 f., il. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MELONI, D.; PIRAS, F.; MUREDDU, A.; FOIS, F.; CONSOLATI, S.G.; LAMON, S.; MAZZETTE, R. *Listeria monocytogenes* in five Sardinian swine slaughterhouses: prevalence, serotype, and genotype characterization. **J Food Prot**. [s.l.];76(11):1863-7. nov. 2013. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-12-505 Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24215688/>> Acesso em: 09 mai. 2022.

MICHAEL, C.A.; DOMINEY-HOWES, D.; LABBATE, M. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. **Front Public Health – Infectious Diseases**. [s.l.], v.2, Article 145, sep. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00145> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2014.00145/full> Acesso em: 13 jan. 2022.

MILAN, C.; TIMM, C. D. Avaliação da capacidade de formar biofilme de *Escherichia coli* produtoras de shiga toxina. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 16, n. 1, p. 31-33, jan./jun. 2013. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/arquivos-de-ciencias-veterinarias-e-zoologia-da-un/16-\(2013\)-1/avaliacao-da-capacidade-de-formar-biofilme-de-escherichia-coli-produto/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/arquivos-de-ciencias-veterinarias-e-zoologia-da-un/16-(2013)-1/avaliacao-da-capacidade-de-formar-biofilme-de-escherichia-coli-produto/) Acesso em: 25 mai. 2022.

MOENNIGHOFF, C.; THOMAS, N.; NIENHAUS, F.; HARTMANN, M; MENRATH, A; MERKEL, J.; DETLEFSEN, H.; KREIENBROCK, L.; HENNIG-PAUKA, I. Phenotypic antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from swine husbandries in Northwestern Germany – temporal patterns in samples from laboratory practice from 2006 to 2017. **BMC Vet Res.**, [s.l.] 16, 37. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-2268-z> Disponível em: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-2268-z> Acesso em: 16 jul 2022.

MONTES, J.H.; RIZZOTO, D.W.; BIANCHI, I.; OLIVEIRA, J.M.; PERIPOLLI, V.; MOREIRA, F. Contaminação por enterobactérias em carcaças suínas ao longo da linha de abate. In: Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnologia Interdisciplinar – XII MICTI – IFC Campus Brusque. [Anais ...] 2019. Disponível em: <https://www.google.com/search?client=safari&rls=en&q=.+Contamina%C3%A7%C3%A3o+por+enterobact%C3%A9rias+em+carca%C3%A7as+su%C3%ADnas+ao+longo+da+linha+de+abate.&ie=UTF-8&oe=UTF-8> Acesso em: 08 jun 2022.

MORALES-PARTERA, A.M.; CARDOSO-TOSET, F.; LUQUE, I.; ASTORGA, R.J.; MALDONADO, A.; HERRERA-LEÓN, S.; HERNÁNDEZ, M.; GÓMEZ-LAGUNA, J.; TARRADAS, C. Prevalence and diversity of *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., and *Listeria monocytogenes* in two free-range pig slaughterhouses. **Food Control**. [s.l.] 2018, v. 92, pp. 208-215. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.053>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713518302160?via%3Dihub> Acesso em: 16 mar 2019.

MORENO, L.Z.; PAIXÃO, R.; GOBBI, D.D.; RAIMUNDO, D.C.; FERREIRA, T.P.; MORENO, A.M.; HOFER, E.; REIS, C.M.; MATTÉ, G.R.; MATTÉ, M.H. Characterization of antibiotic resistance in *Listeria* spp. isolated from slaughterhouse environments, pork and human infections. **J Infect Dev Ctries**. [s.l.], 15;8(4):416-23. Apr. 2014. DOI: 10.3855/jidc.4188. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24727506/> Acesso em: 12 jun. 2021.

MORÉS, N.; AMARAL, A. L. do; LIMA, G. J. M. M. de; COSTA, O. A. D.; MIELE, M. Produção de suínos em família sem uso coletivo de antimicrobianos. **Circular Técnica 61**, Embrapa Suínos e Aves, 1ª ed., 73p. Versão eletrônica (2018). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1093916/producao-de-suinos-em-familia-sem-uso-coletivo-de-antimicrobianos> Acesso em: 03 jan. 2022.

MORÉS, N.; KLEIN, C. H.; LIMA, G. J. M. M. de; BASSI, N. S. S. Sistema de produção de suínos em família sem o uso coletivo de antimicrobianos. Regulamento. **Comunicado Técnico 557**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 6p. 2019. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1102053>>. Acesso em: 06 jan. 2022.

NAIR, A.; RAWOOL, D.B.; DOJAD, S.; POHARKAR, K.; MOHAN, V.; BARBUDDHE, S.B.; KOLHE, R.; KURKURE, N.V.; KUMAR, A.; MALIK, S.V.S.; BALASARAVANAN, T. Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources, **Infect Genet Evol.**, [s.l.], v.36, pp.424-433, ISSN 1567-1348, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.012>. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26292170/>> Acesso em: 25 fev. 2022.

NAMVAR, A.; WARRINER, K. Application of enterobacterial repetitive inter- genic consensus-polymerase chain reaction to trace the fate of generic *Escherichia coli* within a high capacity pork slaughter line. **International Journal of Food Microbiology**. [s.l.], 108(2), 155e163. jan. 2006. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505005908?via%3Dihub>> Acesso em: 29 jun. 2021.

NASTASIJEVIC, I.; LAKICEVIC, B.; RASETA, M.; DJORDJEVIC, V.; JANKOVIC, V.; MRDOVIC, B.; BRANKOVIC-LAZIC, I. Evaluation of pig welfare in lairage and process hygiene in a single abattoir. **Scientific journal "Meat Technology"**, [s.l.]. v. 59, n. 1, p. 8-22, 28 ago. 2018 DOI: <https://doi.org/10.18485/meattech.2018.59.1.2> Acesso em: 05 jun. 2020.

NASTASIJEVIC, I.; TOMASEVIC, I.; SMIGIC, N.; MILICEVIC, D.; PETROVIC, Z.; DJEKIC, I. Hygiene assessment of Serbian meat establishments using different scoring systems. **Food Control.**, [s.l.], v.62, p.193-200. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.034>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505005908?via%3Dihub>> Acesso em: 9 jun. 2020.

NEWELL, D.G.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFALL, J.; SCHEUTZ, F.; GIESSEN, J. V. D; KRUSE, H. Food-borne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. **Int J Food Microbiol.**, [s.l.], v.139, Supplement, 2010, Pages S3-S15, ISSN 0168-1605. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505005908?via%3Dihub>> Acesso em: 12 jan. 2022.

NGUYEN, N.T.; NGUYEN, H.M.; NGUYEN, C.V.; NGUYEN, T.V.; NGUYEN, M.T.; THAI, H.Q.; HO, M.H.; THWAITES, G.; NGO, H.T.; BAKER, S.; CARRIQUE-MAS, J. Use of colistin and other critical antimicrobials on pig and chicken farms in southern Vietnam and its association with resistance in commensal *Escherichia coli* bacteria. **Appl Environ Microbiol.** [s.l.], 82:3727–3735. 2016 DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00337-16>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510000383?via%3Dihub>>
Acesso em: 22 ago. 2022.

OLLÉ, A. de G., M., RUAS, P. M. de S., OLLÉ, M. de A., FLUCK, F., SILVEIRA, A. C. F., ALFAYA, R. H. Uso de antibióticos na alimentação de suínos. Revisão de literatura. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria** [online];18(10):1-18. 2017. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653470001>>. Acesso em: 05 jan. 2022.

OPAS/WHO - Resistência antimicrobiana. [online], 2022 Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ORTIZ, S., LÓPEZ, V., VILLATORO, D., LÓPEZ, P., DÁVILA, J.C., MARTÍNEZ-SUÁREZ, J.N. A 3- year surveillance of the genetic diversity and persistence of *Listeria monocytogenes* in an Iberian pig slaughterhouse and processing plant. **Foodborne Pathog. Dis.** [s.l.], 7 (10), 1177–1784. 2010. DOI: 10.1089/fpd.2010.0535 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20578911/>> Acesso em: 20 fev. 2021.

PAIM, D.S.; PISSETTI, C.; VIEIRA, T.R.; WERLANG, G.O; COSTA, E. de F.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Enumeration, Antimicrobial Resistance and Typing of *Salmonella enterica*: Profile of Strains Carried in the Intestinal Contents of Pigs at Slaughter in Southern Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s.l.] 2019. 47: 1636. DOI: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.89668>. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/89668>> Acesso em: 28 jan. 2022.

PATON, A. W.; PATON. J. C. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic E. coli hlyA, rfbO111, and rfbO157. **J. Clin. Microbiol.** [s.l.] v.36, n.2, p. 598-602, 1998. DOI: 10.1128/JCM.36.2.598-602.1998 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9466788/>> Acesso em: 20 fev. 2019.

PEARCE, R.A.; BOLTON, D.J.; SHERIDAN, J.J.; MCDOWELL, D.A.; BLAIR, I.S.; HARRINGTON, D. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. **Int J Food Microbiol.**, [s.l.], V.90, Issue 3, p.331-339. 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00333-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00333-7). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160503003337?via%3Dihub>> Acesso em: 15 out. 2019.

PETRUZZIELLO-PELLEGRINI, T. N.; MOSLEMI-NAEINI, M; MARSDEN, P. A. New insights into Shiga toxin-mediated endothelial dysfunction in hemolytic uremic syndrome, **Virulence**, [s.l.] 2013, 4:6, 556-563, DOI: 10.4161/viru.26143 Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/viru.26143>> Acesso em: 20 abr. 2020.

PINTO, A.P.S. Swine carcass microbiological evaluation and hazard analysis and critical control points (HACCP) in a slaughterhouse in Minas Gerais, Brazil. **Rev. Soc. Ven. Microbiol.** Caracas, v.24 n.1-2, p. 83-88, jan. 2004. Disponível em: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100015&lng=es&nrm=iso>. Acesso em 26 jan. 2022.

PIRAS, F.; FOIS, F.; CONSOLATI, S.G.; MAZZA, R.; MAZZETTE, R. Influence of Temperature, Source, and Serotype on Biofilm Formation of *Salmonella enterica* Isolates from Pig Slaughterhouses. **J Food Prot.** [s.l.], 78(10):1875-8. oct. 2015. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-085 Disponível em:

<<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/78/10/1875/173905/Influence-of-Temperature-Source-and-Serotype-on>> Acesso em: 25 ago. 2021.

PISSETTI, C.; WERLANG, G. O.; KICH, J.D.; CARDOSO, M. Genotyping and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from pig carcasses. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online]. 2017, v. 37, n. 11, pp. 1253-1260. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001100010> Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/pvb/a/jyfvqzJRZdgKvkXGdGhs7C/?lang=en>>Acesso em: 08 jun 2022.

PISSETTI, C.; WERLANG, G.O.; BIESUS, L.L.; CARDOSO, M. R. I.; KICH, D. J. Detecção de *Salmonella entericae* *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre – RS, v.40, n. 4, pp. 1-8. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 2002. Disponível em:

<<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289023924006>> Acesso em: 17 jul 2022.

RIPOLLES-AVILA, C.; GUITAN-SANTAMARIA, M.; PIZARRO-GIMÉNEZ, K.; MAZAHARI, T.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.J. Dual-species biofilms formation between dominant microbiota isolated from a meat processing industry with *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*: Unraveling their ecological interactions, **Food Microbiology**, [s.l.], v.105, 104026, ISSN 0740-0020, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104026> Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002022000508?via%3Dihub>> Acesso em: 12 jul. 2022.

RIVAS, T.; VIZCAINO, J. A.; HERRERA, F. J. Microbial contamination of carcasses and equipment from an Iberian pig slaughterhouse. **Journal of Food Protection.** [s.l.] 2000, 63(12), 1670e1675. Disponível em: DOI: 10.4315/0362-028x-63.12.1670 Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/63/12/1670/169969/Microbial-Contamination-of-Carcasses-and-Equipment>> Acesso em: 29 jun. 2019.

RIVERA, D.; TOLEDO, V.; REYES-JARA, A.; NAVARRETE, P.; TAMPLIN, M.; KIMURA, B.; WIEDMANN, M.; SILVA, P.; SWIT, A. I. M. Approaches to empower the implementation of new tools to detect and prevent foodborne pathogens in food processing. **Food Microbiology.** [s.l.] 2018, 75, p.126-132. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.009>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002017302186?via%3Dihub>> Acesso em: 16 nov. 2020.

RODRIGUES, G. R.; CARVALHO, I. R.; GANDRA, E. A.; CARBONERA, N.; DEMARI, G. H.; DEMARI, A. C. D.; LAUTENCHLEGER, F.; MOURA, N.B.; MARTINS, T. da S.; SCHEER, E.H.; VIVIAN, C. C. U. Reflexes and microbiological interrelationships in pork processing and base. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, 7(3), 25395-25430. mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-308>. Disponível em:

<<https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/26249/20819>> Acesso em: 30 jan. 2022.

RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; ARIZA-MIGUEL, J.; DIEZ-VALCARCE, M.; STESSL, B.; BEUTLICH, J.; FERNÁNDEZ-NATAL, I.; HERNÁNDEZ, M.; WAGNER, M.; ROVIRA, J. Identification and molecular characterization of pathogenic bacteria in foods confiscated from non-EU flights passengers at one Spanish airport. **Int J Food Microbiol.** [s.l.], 16;209:20-5. sep. 2015. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160514005200?via%3Dihub>> Acesso em: 18 mai. 2022.

ROSENGREN, L.B.; WALDNER, C.L.; REID-SMITH, R.J. Associations between antimicrobial resistance phenotypes, antimicrobial resistance genes, and virulence genes of fecal *Escherichia coli* isolates from healthy grow-finish pigs. **Appl Environ Microbiol.** [s.l.], 75(5):1373-80. mar. 2009. DOI: 10.1128/AEM.01253-08 Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01253-08>> Acesso em: 26 jan. 2022.

RYSER, E.T.; DONNELLY, C.W. Listeria. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M.L. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 5 ed. American Public Health Association, 2015.

SAMULAK, R. L.; ZANETTI, G. F.; RODRIGUES, S. A.; BITTENCOURT, J. V. M. Condição higiênico - sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica de embutidos no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Industrial.** Paraná, v. 05, suplemento, p. 408-417. 2011. DOI: 10.3895/S1981-36862011000100004S1 Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/940>> Acesso em: 28 set 2018.

SANCHEZ, C.J.; MENDE, K; BECKIUS, K.M.; AKERS, K.S.; ROMANO, D.R.; WENKE, J.C.; MURRAY, C.K. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. **BMC Infectious Diseases,** [s.l.], 13,47. 2013 DOI:10.1186/1471-2334-13-47 Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-13-47>> Acesso em: 25 jun. 2022.

SANTOS, L.A.G. DOS; PINTO, P.S.A. DE; MORAES, M.P.; VANETTI, M.C.D.; BEVILACQUA, P.D.; PINTO, M.S.; DIAS, F.S. Pesquisa molecular e convencional de *Listeria monocytogenes* para o controle de qualidade da carne suína. **Revista Ceres,** v. 53, núm. 308, pp. 481-486, jul/ago, 2006. Universidade Federal de Viçosa, Brasil. 2006. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305226674007>> Acesso em: 29 jun. 2022.

SATO, J. P. H.; TAKEUTI, K. L.; DANIEL, A. G. D. S.; KOERICH, P. K.; BERNARDI, M. L.; BARCELLOS, D. E. S. N. D. Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarreia no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae,** [s.l.] 2015. 43: 1329. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/223833>> Acesso em: 30 jul 2022.

SERENO, M.J.; VIANA, C.; PEGORARO, K.; SILVA, D.A.L.; YAMATOIGI, R.S.; NERO, L.A.; BERSOT, L.S. Distribution, adhesion, virulence and antibiotic resistance of persistent

Listeria monocytogenes in a pig slaughterhouse in Brazil. **Food Microbiology**, [s.l.], v.84,103234, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.018>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002019301285?via%3Dihub>> Acesso em: 23 jan. 2022.

SHI, H.; ZHOU, X.; ZOU, W.; WANG, Y.; LEI, C.; XIANG, R.; ZHOU, L.; LIU, B.; ZHANG, A.; WANG, H. Co-occurrence of biofilm formation and quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype typhimurium carrying an IncHI2-type oqxAB-positive plasmid, **Microbial Pathogenesis**, [s.l.], v. 123, Pages 68-73, 2018. ISSN 0882-4010, DOI: 10.1016/j.micpath.2018.06.006 Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29928943/>> Acesso em: 25 jun. 2022.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A.R.; OKAZAKI, M.M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SILVA, R. O. S. DA S.; GONÇALVES, G. G.; LAZZARI, A. M.; MULINARI, F. Prevalência de *Salmonella* spp. em suínos abatidos em um frigorífico do Distrito Federal determinada pela técnica de PCR. **Brazilian Journal of Food Technology** [s.l.] 21. 10.1590/1981-6723.10417. (2018). DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.10417> Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjft/a/pYK9rcxDvkVWtDrF7VfP7Wy/?lang=pt>> Acesso em: 14 ago. 2019.

SPESCHA, C.; STEPHAN, R.; ZWEIFEL, C. Microbiological Contamination of Pig Carcasses at Different Stages of Slaughter in Two European Union–Approved Abattoirs. **J Food Prot** [s.l.] 1 November 2006; 69 (11): 2568–2575. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.11.2568>. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/69/11/2568/172003/Microbiological-Contamination-of-Pig-Carcasses-at> Acesso em: 08 jun. 2022

STELLA, A. E.; OLIVEIRA, A. F. de.; MOREIRA, C. N.; VIALI, K. G. Uso de antimicrobianos na suinocultura: indicações e restrições. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu. 2020, v. 27, p. 1–14. DOI: 10.35172/rvz.2020.v27.492. Disponível em: <<https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/492>>. Acesso em: 05 jan. 2022.

STEPANOVIĆ, S. VUKOVIC, D.; DAKIC, I.; SAVIC, B.; SVABIC-VLAHOVIC, M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of microbiological methods**, [s.l.] v. 40, n. 2, p. 175-179, 2000. DOI: 10.1016/s0167-7012(00)00122-6 Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167701200001226>> Acesso em: 10 mai. 2021.

SUN, J.; ZHANG, H.; LIU, Y.; FENG, Y. Towards understanding MCR-like colistin resistance. **Trends in Microbiology**, [s.l.], v.26 (9), p. 794-808. 2018, sep. 01 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.006> Disponível em: <<http://www.cell.com/trends/microbiology/retrieve/pii/S0966842X18300428?returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X18300428%3Fshowall%3Dtrue>> Acesso em: 04 jun. 2019.

TADESSE, D.A.; ZHAO, S.; TONG, E.; AYERS, S.; SINGH, A.; BARTHOLOMEW, M.J.; MCDERMOTT, P.F. Antimicrobial Drug Resistance in *Escherichia coli* from Humans and Food Animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases*. [s.l.];18(5):741-749. 2012. DOI: 10.3201/eid1805.111153 Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22515968/>> Acesso em: 20 fev. 2022.

TADIELO, L.E.; BELLÉ, T.H.; SANTOS, E.A.R.; SCHMIEDT, J.A.; CERQUEIRA-CÉZAR, C.K.; NERO, L.A.; YAMATOIGI, R.S.; PEREIRA, J.G.; BERSOT, L.S. Pure and mixed biofilms formation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on polypropylene surfaces, **LWT**, [s.l.] Volume 162, 2022, 113469, ISSN 0023-6438, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643822004042>

Acesso em: 30 jun. 2022.

TEMPLE, M.E.; NAHATA, M.C. Treatment of listeriosis. **Ann Pharmacother**. [s.l.], 34(5):656-61. May 2000 DOI: 10.1345/aph.19315 Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10852095/>> Acesso em: 17 mai. 2022.

TSENG, M.; FRATAMICO, P.M.; MANNING, S.D.; FUNK, J.A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in swine: the public health perspective. **Anim Health Res Rev**.

[s.l.],15(1):63-75. jun. 2014. DOI: 10.1017/S1466252313000170 Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24397985/>> Acesso em: 24 ago. 2021.

VELASCO, J.; BRUZZA, A.; SCHMIDT, V. Pesquisa de *Salmonella* sp. em suínos abatidos sob inspeção municipal / Search for *Salmonella* sp. in swine slaughtered under municipal inspection. **Hig. aliment.**, [s.l.] 2017; 31(272/273): 84-89, 30 Oct. 2017. Disponível em:

<<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-876168>> Acesso em: 13 out. 2019.

VELEBIT, B.; LAKICEVIC, B.; SEMENOVA, A.A.; REVUTSKAYA, N.M.; YUSHINA, Y.K.; NASONOVA, V.V. Factors influencing microbial transmission in a meat processing plant. **Theory and practice of meat processing**. [s.l.];6(2):183-190. 2021. DOI:

<https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-2-183-190>. Disponível em:

<<https://www.meatjournal.ru/jour/article/view/175>> Acesso em: 20 jul. 2022.

VIANA, C.; GROSSI, J. L.; SERENO, M. J.; YAMATOIGI, R. S.; BERSOT, L. DOS S.; CALL, D. R.; NERO, L. A. Phenotypic and genotypic characterization of non-typhoidal *Salmonella* isolated from a Brazilian pork production chain. **Food Research International**. [s.l.] v. 137, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109406>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920304312?via%3Dihub>>

Acesso em: 12 set. 2021.

VISCIANO, P.; SCHIRONE, M.; OLIVASTRI, A.M.A.; VERDECCHIA, E.; PAPARELLA, A. Levels of microbial contamination of swine carcasses along the slaughtering process line. **J Consum Prot Food Saf** . [s.l.], 15, 271–276. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00003-020-01276-z>

Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-020-01276-z>>

Acesso em: 14 mar. 2021.

VIVIAN, C. C. U.; GANDRA, E. A.; CARVALHO, I. R.; DEMARI, A. C. D.; RODRIGUES, G. R.; PRETTO, S. M. S.; SCHEER, E. H.; MARCHI, G. M.;

LAUTENCHLEGER, F.; MOURA, N. B.; HUTRA, D. J. *Salmonella* spp. in liver processing in a pig slaughterhouse in the south of Brazil. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. e56110210746, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i2.10746. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/10746>>. Acesso em: 08 jun 2022.

WARRINER, K.; ALDSWORTH, T.G.; KAUR, S.; DODD, C.E.R. Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing. **J Appl Microbiol.**, [s.l.], 93, 169–177. 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01678.x Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12067387/>> Acesso em: 20 mai. 2019.

WESLEY, I.V.; LARSEN, S.; HURD, H.S.; MCKEAN, J.D.; GRIFFITH, R.; RIVERA, F.; NANNAPANENI, R.; COX, M.; JOHNSON, M.; WAGNER, D.; DE MARTINO, M. Low prevalence of *Listeria monocytogenes* in cull sows and pork. **J Food Prot.** [s.l.], 71(3):545-9. mar. 2008. DOI: 10.4315/0362-028x-71.3.545. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18389698/>> Acesso em: 20 jul. 2022.

WHEATLEY, P.; GIOTIS, E.S.; MCKEVITT, A.I. Effects of slaughtering operations on carcass contamination in an Irish pork production plant. **Irish Veterinary Journal** [s.l.], 67:1, 2014. Disponível em: <http://www.irishvetjournal.org/content/67/1/1> Acesso em: 09 jun. 2020.

WHITHAM, H.K.; SUNDARARAMAN, P.; DEWEY-MATTI, D.; MANIKONDA, K.; MARSHALL, K. E.; GRIFFIN, P.M.; GLEASON, B. L.; SUBRAMHANYA, S.; CROWE, S. J. Novel Outbreak-Associated Food Vehicles, United States. **Emerg Infect Dis.** [s.l.] 2021; 27(10):2554-2559. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2710.204080> Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/27/10/20-4080_article> Acesso em: 12 jan. 2022.

WHO - Antimicrobial resistance in the food chain. **Food Safety**, nov. 2017. Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/amrfoodchain/en/ . Acesso em: 20 mai. 2019.

WHO. Critically important antimicrobials for human medicine – Geneva: **World Health Organization**. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2019. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf> Acesso em: 31 jul. 2022.

WHO. **E.coli**. fev.2018a. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>>. Acesso em: 10 jan. 2022.

WHO. **Salmonella (non typhoidal)**. Fev.2018b. Disponível em:<[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>. Acesso em: 10 jan. 2022.

WILBERT, C. A.; MORES, N.; KLEIN, C. H.; LIMA, G. J. M. M. de; BASSI, N. S. S. Sistema de produção de suínos em família sem o uso coletivo de antimicrobianos – Regulamento. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves. **Comunicado Técnico**, 557, 6 p. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1102053/sistema-de-producao-de-suinos-em-familia-sem-o-uso-coletivo-de-antimicrobianos-regulamento>> Acesso em: 07 jan. 2022.

WU, S. S.; DALSGAARD, A.; HAMMERUM, A. M.; PORSBO, L. J.; JENSEN, L. B. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes *among Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. **Acta Veterinaria Scandinavica**. [s.l.] 2010, 52:47 Disponível em: <<https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/1751-0147-52-47>> Acesso em: 21 jun. 2021.

WU, S., DALSGAARD, A., VIEIRA, A. R., EMBORG, H. D., & JENSEN, L. B. Prevalence of tetracycline resistance and genotypic analysis of populations of *Escherichia coli* from animals, carcasses and cuts processed at a pig slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.] 135(3), 254e259. 2009. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.027 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509003687?via%3Dihub>> Acesso em: 20 ago. 2021.

YU, S.L.; BOLTON, D.; LAUBACH, C.; KLINE, P.; OSER, A.; PALUMBO, S.A. Effect of dehairing operations on microbiological quality of swine carcasses. **J Food Prot.** [s.l.], 62(12):1478-81, Dec, 1999. DOI: 10.4315/0362-028x-62.12.1478 Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/62/12/1478/167834/Effect-of-Dehairing-Operations-on-Microbiological>> Acesso em: 15 fev. 2019.

ZERO, R.C.; RODRIGUES, J.O. *Salmonella*: riscos, transmissão e controle na cadeia de produção suína - revisão da literatura. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 9, n. 1, p. 129-141, nov. 2017. ISSN 2175-1463. DOI: <https://doi.org/10.3738/21751463.2692>. Disponível em: <<http://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/animalium/article/view/2692/2536>>. Acesso em: 16 jan. 2022.

ZHANG, P.; ESSENDOUBI, S.; KEENLISIDE, J.; REUTER, T.; STANFORD, K.; KING, R.; LU, P.; YANG, X. Genomic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle and pork-production related environments. **npj Sci Food** [s.l.], 5, 15. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00097-0>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41538-021-00097-0>> Acesso em: 15 mai. 2022.

ZHANG, P.; SHEN, Z.; ZHANG, C.; SONG, L.; WANG, B.; SHANG, J.; YUE, X.; QU, Z.; LI, X.; WU, L.; ZHENG, Y.; ADITYA, A.; WANG, Y.; XU, S.; WU, C. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008–2015. **Vet Microbiol.**, [s.l.] v. 203, pp. 49-55, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.02.008>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811351630801X?via%3Dihub>> Acesso em: 14 mar. 2022.

ZWIRZITZ, B.; WETZELS, S.U.; DIXON, E.D.; STESSL, B.; ZAISER, A.; RABANSER, I.; THALGUTER, S.; PINIOR, B.; ROCH, F.F.; STRACHAN, C.; ZANGHELLINI, J.; DZIECIOL, M.; WAGNER, M.; SELBERHERR, E. The sources and transmission routes of microbial populations throughout a meat processing facility. **npj Biofilms Microbiomes** 6, 26, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41522-020-0136-z> Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41522-020-0136-z>> Acesso em: 14 jul. 2021.

APÊNDICES

Resultados das análises de capacidade de formação de biofilme.

APÊNDICE I - CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* DAS CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO A, POR TEMPERATURA E TEMPOS DE INCUBAÇÃO, DE ACORDO COM STEPANOVIC *ET AL.* (2000).

| Isolados | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|----------|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| 1A | FF | FF | FF | FFO | FFO | FF | FM | FF | FF |
| 1B | FF | FF | FF | FFO | FF | FF | FM | FF | FF |
| 1C | NF | FF | FF | FF | FM | FM | FM | FF | FF |
| 1E | NF | NF | FF | FF | NF | NF | NF | NF | NF |
| 2A | NF | NF | NF | FF | NF | FF | NF | NF | NF |
| 2B | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FF | FFO | FFO | FFO |
| 2C | FM | FM | FM | FFO | FM | FM | FF | FF | FF |
| 3A | FF | FF | FF | FFO | FM | FFO | FF | FF | NF |
| 3B | FM | FF | FF | FF | NF | NF | NF | NF | NF |
| 3D | NF | NF | FF | FFO | NF | NF | NF | NF | NF |
| 3E | NF | FF | FF | FM | NF | FFO | NF | FF | FF |
| 4A | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO |
| 4D | FM | NF | FF | FF | FF | NF | NF | NF | NF |
| 4E | FF | FF | FF | FFO | FM | FF | FF | FF | FF |
| 5A | FM | FFO | FM | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FF |
| 5B | FM | FFO | FF | FFO | FM | FF | FF | FF | NF |
| 5C | FF | FF | FM | FFO | FFO | FM | FF | FF | FF |
| 5D | FM | FF | FM | FFO | FFO | FM | FF | FF | FF |
| 6A | FF | FF | FF | FF | FF | FF | NF | NF | FF |
| 6B | NF | NF | FF | FF | NF | NF | NF | NF | NF |
| 6D | FM | FM | FF | FFO | FF | FM | FM | FF | FF |
| 6E | FF | NF | FF | FF | FF | NF | NF | NF | FF |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme.

APÊNDICE II - CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* DAS CARÇAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, POR TEMPERATURA E TEMPOS DE INCUBAÇÃO, DE ACORDO COM STEPANOVIC *ET AL.* (2000).

| Isolados | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|----------|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| 7A | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FFO | FM | FFO | FFO |
| 7B | FFO | FM | FM | FM | FFO | FFO | FFO | FM | FFO |
| 7C | FM | FFO | FM | FM | FF | FF | FF | FF | FF |
| 7D | FFO | FM | FF | FM | FM | FFO | FFO | FF | FFO |
| 7E | NF | FF | FF | NF | NF | FF | NF | NF | FF |
| 8A | FF | FF | FF | FF | NF | FF | NF | FF | FM |
| 8B | FM | FM | FM | FF | FF | FF | FF | FF | NF |
| 8C | FM | FM | FM | FF | FF | FFO | NF | FF | FFO |
| 8D | FFO | FM | FFO | FM | FM | FFO | FFO | FFO | FFO |
| 8E | FM | FM | FF | FF | FF | FM | FF | FF | FM |
| 9A | FM | FF | FF | FF | FF | FF | FF | FF | FF |
| 9B | FF | FF | FF | FF | NF | FF | FF | FF | FF |
| 9C | FF | FF | FM | FM | FFO | FM | FFO | FFO | FF |
| 9D | FFO | FFO | FFO | FF | FM | FFO | FF | FM | FFO |
| 9E | FF | FF | FF | FF | FF | FF | NF | NF | FM |
| 10A | FF | FF | FF | NF | FF | FM | NF | FF | NF |
| 10B | FF | FF | FF | NF | NF | FF | FF | FF | FF |
| 10C | FM | FF | FF | NF | FF | FF | FF | FF | FM |
| 10D | FF | FM | FF | FM | FF | FF | FF | FF | FF |
| 10E | FM | FM | FM | FFO | FFO | FM | FF | FF | FF |
| 11A | FF | FM | FM | FM | FM | FFO | FM | FFO | FFO |
| 11B | FM | FM | FF | FM | FFO | FM | FM | FM | FFO |
| 11C | FFO | FF | FF | FF | FM | FFO | FF | FM | FFO |
| 11D | FM | FM | FM | FM | FFO | FM | FF | FF | FFO |
| 11E | FM | FF | FF | FF | FM | FFO | FM | FF | FFO |
| 12A | FF | FF | FF | FF | FM | FM | FFO | FFO | FFO |
| 12B | FM | FM | FF | FF | FF | FFO | FF | FF | FFO |
| 12D | FM | FF | FF | FF | FF | FF | FF | FF | FFO |
| 12E | FM | FM | FM | FF | FM | FFO | FM | FF | FFO |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme.

APÊNDICE III - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE ESCHERICHIA COLI DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO A, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO.

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,087 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,071 | DO _n = 0,058 | DO _n = 0,080 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,064 | DO _n = 0,065 | DO _n = 0,061 |
| NF | DO _i ≤ 0.087 | DO _i ≤ 0.067 | DO _i ≤ 0.071 | DO _i ≤ 0.058 | DO _i ≤ 0.080 | DO _i ≤ 0.063 | DO _i ≤ 0.064 | DO _i ≤ 0.065 | DO _i ≤ 0.061 |
| FF | 0.087 < DO _i ≤ 0.174 | 0.067 < DO _i ≤ 0.134 | 0.071 < DO _i ≤ 0.142 | 0.058 < DO _i ≤ 0.116 | 0.080 < DO _i ≤ 0.160 | 0.063 < DO _i ≤ 0.126 | 0.064 < DO _i ≤ 0.128 | 0.065 < DO _i ≤ 0.130 | 0.061 < DO _i ≤ 0.122 |
| FM | 0.174 < DO _i ≤ 0.348 | 0.134 < DO _i ≤ 0.268 | 0.142 < DO _i ≤ 0.284 | 0.116 < DO _i ≤ 0.232 | 0.160 < DO _i ≤ 0.320 | 0.126 < DO _i ≤ 0.252 | 0.128 < DO _i ≤ 0.256 | 0.130 < DO _i ≤ 0.260 | 0.122 < DO _i ≤ 0.244 |
| FFO | 0.348 < DO _i | 0.268 < DO _i | 0.284 < DO _i | 0.232 < DO _i | 0.320 < DO _i | 0.252 < DO _i | 0.256 < DO _i | 0.260 < DO _i | 0.244 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| CN | 0,065 | 0,592 | 0,070 | 0,060 | 0,067 | 0,061 | 0,062 | 0,059 | 0,660 |
| CN | 0,081 | 0,063 | 0,068 | 0,590 | 0,113 | 0,064 | 0,069 | 0,073 | 0,061 |
| CN | 0,114 | 0,070 | 0,074 | 0,056 | 0,060 | 0,064 | 0,060 | 0,064 | 0,061 |
| 1A | 0,098 | 0,096 | 0,142 | 0,894 | 0,670 | 0,121 | 0,234 | 0,112 | 0,082 |
| 1A | 0,116 | 0,095 | 0,121 | 0,573 | 0,804 | 0,122 | 0,165 | 0,115 | 0,086 |
| 1A | 0,114 | 0,114 | 0,117 | 0,517 | 0,731 | 0,105 | 0,158 | 0,121 | 0,089 |
| 1B | 0,114 | 0,086 | 0,105 | 1,474 | 0,166 | 0,074 | 0,145 | 0,072 | 0,074 |
| 1B | 0,117 | 0,081 | 0,108 | 0,362 | 0,123 | 0,071 | 0,135 | 0,073 | 0,069 |
| 1B | 0,085 | 0,083 | 0,109 | 0,263 | 0,139 | 0,076 | 0,136 | 0,070 | 0,071 |
| 1C | 0,085 | 0,113 | 0,132 | 0,121 | 0,199 | 0,194 | 0,128 | 0,111 | 0,090 |
| 1C | 0,077 | 0,108 | 0,138 | 0,059 | 0,213 | 0,194 | 0,149 | 0,115 | 0,082 |
| 1C | 0,093 | 0,117 | 0,144 | 0,060 | 0,210 | 0,160 | 0,147 | 0,118 | 0,078 |
| 1E | 0,068 | 0,064 | 0,077 | 0,059 | 0,065 | 0,058 | 0,058 | 0,070 | 0,057 |
| 1E | 0,068 | 0,057 | 0,068 | 0,059 | 0,063 | 0,060 | 0,056 | 0,063 | 0,059 |
| 1E | 0,069 | 0,057 | 0,072 | 0,060 | 0,062 | 0,059 | 0,055 | 0,062 | 0,056 |
| 2A | 0,074 | 0,061 | 0,067 | 0,171 | 0,063 | 0,059 | 0,052 | 0,059 | 0,057 |
| 2A | 0,405 | 0,281 | 0,065 | 0,057 | 0,176 | 0,065 | 0,052 | 0,058 | 0,059 |
| 2A | 0,069 | 0,065 | 0,068 | 0,061 | 0,069 | 0,065 | 0,061 | 0,062 | 0,060 |
| 2B | 0,574 | 0,618 | 0,644 | 0,625 | 0,544 | 0,078 | 0,501 | 0,412 | 0,328 |
| 2B | 0,655 | 0,651 | 0,598 | 0,773 | 0,628 | 0,115 | 0,492 | 0,350 | 0,302 |
| 2B | 0,636 | 0,629 | 0,587 | 0,532 | 0,607 | 0,084 | 0,508 | 0,422 | 0,284 |
| 2C | 0,228 | 0,103 | 0,176 | 0,812 | 0,219 | 0,144 | 0,105 | 0,115 | 0,098 |
| 2C | 0,246 | 0,188 | 0,109 | 0,581 | 0,169 | 0,142 | 0,136 | 0,113 | 0,097 |
| 2C | 0,357 | 0,319 | 0,155 | 0,471 | 0,908 | 0,190 | 0,119 | 0,124 | 0,108 |

(continuação)

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DOn = 0,087 | DOn = 0,067 | DOn = 0,071 | DOn = 0,058 | DOn = 0,080 | DOn = 0,063 | DOn = 0,064 | DOn = 0,065 | DOn = 0,061 |
| NF | DOi ≤ 0,087 | DOi ≤ 0,067 | DOi ≤ 0,071 | DOi ≤ 0,058 | DOi ≤ 0,080 | DOi ≤ 0,063 | DOi ≤ 0,064 | DOi ≤ 0,065 | DOi ≤ 0,061 |
| FF | 0,087 < DOi ≤ 0,174 | 0,067 < DOi ≤ 0,134 | 0,071 < DOi ≤ 0,142 | 0,058 < DOi ≤ 0,116 | 0,080 < DOi ≤ 0,160 | 0,063 < DOi ≤ 0,126 | 0,064 < DOi ≤ 0,128 | 0,065 < DOi ≤ 0,130 | 0,061 < DOi ≤ 0,122 |
| FM | 0,174 < DOi ≤ 0,348 | 0,134 < DOi ≤ 0,268 | 0,142 < DOi ≤ 0,284 | 0,116 < DOi ≤ 0,232 | 0,160 < DOi ≤ 0,320 | 0,126 < DOi ≤ 0,252 | 0,128 < DOi ≤ 0,256 | 0,130 < DOi ≤ 0,260 | 0,122 < DOi ≤ 0,244 |
| FFO | 0,348 < DOi | 0,268 < DOi | 0,284 < DOi | 0,232 < DOi | 0,320 < DOi | 0,252 < DOi | 0,256 < DOi | 0,260 < DOi | 0,244 < DOi |
| Isolados | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi |
| 3A | 0,162 | 0,091 | 0,090 | 0,429 | 0,203 | 0,529 | 0,065 | 0,088 | 0,060 |
| 3A | 0,173 | 0,080 | 0,089 | 0,391 | 0,171 | 0,472 | 0,064 | 0,084 | 0,061 |
| 3A | 0,258 | 0,175 | 0,078 | 0,500 | 0,218 | 0,536 | 0,073 | 0,093 | 0,062 |
| 3B | 0,390 | 0,069 | 0,067 | 0,064 | 0,063 | 0,057 | 0,056 | 0,060 | 0,059 |
| 3B | 0,320 | 0,066 | 0,095 | 0,063 | 0,147 | 0,056 | 0,057 | 0,061 | 0,059 |
| 3B | 0,296 | 0,077 | 0,072 | 0,065 | 0,058 | 0,059 | 0,050 | 0,058 | 0,058 |
| 3D | 0,359 | 0,058 | 0,114 | 0,544 | 0,084 | 0,059 | 0,056 | 0,056 | 0,060 |
| 3D | 0,070 | 0,065 | 0,120 | 0,589 | 0,058 | 0,060 | 0,068 | 0,060 | 0,060 |
| 3D | 0,064 | 0,060 | 0,072 | 0,588 | 0,066 | 0,060 | 0,062 | 0,063 | 0,059 |
| 3E | 0,071 | 0,089 | 0,133 | 0,742 | 0,080 | 0,303 | 0,060 | 0,064 | 0,085 |
| 3E | 0,064 | 0,070 | 0,116 | 0,068 | 0,058 | 0,347 | 0,065 | 0,067 | 0,063 |
| 3E | 0,062 | 0,069 | 0,151 | 0,182 | 0,066 | 0,291 | 0,064 | 0,072 | 0,060 |
| 4A | 0,637 | 0,517 | 0,832 | 0,717 | 0,776 | 0,529 | 0,600 | 0,398 | 0,389 |
| 4A | 0,603 | 0,492 | 0,635 | 0,642 | 0,433 | 0,472 | 0,538 | 0,405 | 0,390 |
| 4A | 0,646 | 0,449 | 0,582 | 0,742 | 0,383 | 0,536 | 0,493 | 0,439 | 0,353 |
| 4D | 0,261 | 0,065 | 0,085 | 0,061 | 0,091 | 0,057 | 0,059 | 0,062 | 0,056 |
| 4D | 0,284 | 0,056 | 0,070 | 0,064 | 0,090 | 0,056 | 0,055 | 0,057 | 0,058 |
| 4D | 0,259 | 0,070 | 0,073 | 0,068 | 0,057 | 0,059 | 0,056 | 0,058 | 0,060 |
| 4E | 0,107 | 0,068 | 0,103 | 0,764 | 0,172 | 0,078 | 0,075 | 0,107 | 0,069 |
| 4E | 0,154 | 0,069 | 0,121 | 0,264 | 0,152 | 0,115 | 0,074 | 0,105 | 0,063 |
| 4E | 0,190 | 0,075 | 0,111 | 0,164 | 0,193 | 0,084 | 0,075 | 0,107 | 0,057 |
| 5A | 0,220 | 0,208 | 0,184 | 1,089 | 0,728 | 0,303 | 0,549 | 0,317 | 0,113 |
| 5A | 0,288 | 0,296 | 0,354 | 1,362 | 0,837 | 0,347 | 0,374 | 0,355 | 0,105 |
| 5A | 0,235 | 0,297 | 0,229 | 1,490 | 1,895 | 0,291 | 0,277 | 0,463 | 0,111 |
| 5B | 0,359 | 0,463 | 0,137 | 0,442 | 0,178 | 0,097 | 0,157 | 0,083 | 0,060 |
| 5B | 0,127 | 0,526 | 0,105 | 0,676 | 0,260 | 0,099 | 0,094 | 0,087 | 0,061 |
| 5B | 0,145 | 0,403 | 0,151 | 0,462 | 0,216 | 0,107 | 0,088 | 0,093 | 0,070 |
| 5C | 0,135 | 0,065 | 0,130 | 0,760 | 1,114 | 0,237 | 0,085 | 0,083 | 0,137 |
| 5C | 0,122 | 0,081 | 0,148 | 1,238 | 1,263 | 0,248 | 0,088 | 0,076 | 0,115 |
| 5C | 0,187 | 0,076 | 0,153 | 1,119 | 0,988 | 0,226 | 0,092 | 0,081 | 0,110 |
| 5D | 0,189 | 0,102 | 0,181 | 0,805 | 0,493 | 0,148 | 0,103 | 0,115 | 0,085 |
| 5D | 0,211 | 0,076 | 0,144 | 0,352 | 0,635 | 0,133 | 0,079 | 0,106 | 0,090 |
| 5D | 0,187 | 0,112 | 0,157 | 0,605 | 0,608 | 0,141 | 0,123 | 0,118 | 0,093 |

(continuação)

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,087 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,071 | DO _n = 0,058 | DO _n = 0,080 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,064 | DO _n = 0,065 | DO _n = 0,061 |
| NF | DO _i ≤ 0,087 | DO _i ≤ 0,067 | DO _i ≤ 0,071 | DO _i ≤ 0,058 | DO _i ≤ 0,080 | DO _i ≤ 0,063 | DO _i ≤ 0,064 | DO _i ≤ 0,065 | DO _i ≤ 0,061 |
| FF | 0,087 < DO _i ≤ 0,174 | 0,067 < DO _i ≤ 0,134 | 0,071 < DO _i ≤ 0,142 | 0,058 < DO _i ≤ 0,116 | 0,080 < DO _i ≤ 0,160 | 0,063 < DO _i ≤ 0,126 | 0,064 < DO _i ≤ 0,128 | 0,065 < DO _i ≤ 0,130 | 0,061 < DO _i ≤ 0,122 |
| FM | 0,174 < DO _i ≤ 0,348 | 0,134 < DO _i ≤ 0,268 | 0,142 < DO _i ≤ 0,284 | 0,116 < DO _i ≤ 0,232 | 0,160 < DO _i ≤ 0,320 | 0,126 < DO _i ≤ 0,252 | 0,128 < DO _i ≤ 0,256 | 0,130 < DO _i ≤ 0,260 | 0,122 < DO _i ≤ 0,244 |
| FFO | 0,348 < DO _i | 0,268 < DO _i | 0,284 < DO _i | 0,232 < DO _i | 0,320 < DO _i | 0,252 < DO _i | 0,256 < DO _i | 0,260 < DO _i | 0,244 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| 6A | 0,920 | 0,095 | 0,114 | 0,079 | 0,122 | 0,070 | 0,063 | 0,061 | 0,062 |
| 6A | 0,137 | 0,457 | 0,093 | 0,091 | 0,109 | 0,111 | 0,060 | 0,075 | 0,065 |
| 6A | 0,085 | 0,091 | 0,110 | 0,104 | 0,135 | 0,068 | 0,067 | 0,061 | 0,064 |
| 6B | 0,083 | 0,097 | 0,137 | 0,070 | 0,073 | 0,057 | 0,062 | 0,054 | 0,060 |
| 6B | 0,415 | 0,063 | 0,105 | 0,069 | 0,068 | 0,057 | 0,060 | 0,056 | 0,057 |
| 6B | 0,062 | 0,061 | 0,151 | 0,439 | 0,135 | 0,061 | 0,058 | 0,059 | 0,057 |
| 6E | 0,164 | 0,063 | 0,170 | 0,070 | 0,059 | 0,058 | 0,055 | 0,062 | 0,058 |
| 6E | 0,261 | 0,063 | 0,069 | 0,089 | 0,329 | 0,057 | 0,050 | 0,056 | 0,071 |
| 6E | 0,131 | 0,061 | 0,076 | 0,076 | 0,071 | 0,061 | 0,058 | 0,055 | 0,063 |

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0,075 | DO _i ≤ 0,066 | DO _i ≤ 0,068 | DO _i ≤ 0,078 | DO _i ≤ 0,063 | DO _i ≤ 0,061 | DO _i ≤ 0,067 | DO _i ≤ 0,069 | DO _i ≤ 0,087 |
| FF | 0,075 < DO _i ≤ 0,150 | 0,066 < DO _i ≤ 0,132 | 0,068 < DO _i ≤ 0,136 | 0,078 < DO _i ≤ 0,156 | 0,063 < DO _i ≤ 0,126 | 0,061 < DO _i ≤ 0,122 | 0,067 < DO _i ≤ 0,134 | 0,069 < DO _i ≤ 0,138 | 0,087 < DO _i ≤ 0,174 |
| FM | 0,150 < DO _i ≤ 0,300 | 0,132 < DO _i ≤ 0,264 | 0,136 < DO _i ≤ 0,272 | 0,156 < DO _i ≤ 0,312 | 0,126 < DO _i ≤ 0,252 | 0,122 < DO _i ≤ 0,244 | 0,134 < DO _i ≤ 0,268 | 0,138 < DO _i ≤ 0,276 | 0,174 < DO _i ≤ 0,348 |
| FFO | 0,300 < DO _i | 0,264 < DO _i | 0,272 < DO _i | 0,312 < DO _i | 0,252 < DO _i | 0,244 < DO _i | 0,268 < DO _i | 0,276 < DO _i | 0,348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| CN | 0,078 | 0,064 | 0,067 | 0,078 | 0,062 | 0,060 | 0,072 | 0,074 | 0,099 |
| CN | 0,077 | 0,065 | 0,068 | 0,078 | 0,061 | 0,061 | 0,061 | 0,068 | 0,084 |
| CN | 0,070 | 0,069 | 0,068 | 0,077 | 0,065 | 0,062 | 0,068 | 0,066 | 0,079 |
| 6D | 0,231 | 0,178 | 0,074 | 0,480 | 0,125 | 0,139 | 0,223 | 0,120 | 0,151 |
| 6D | 0,251 | 0,174 | 0,089 | 0,412 | 0,104 | 0,129 | 0,154 | 0,096 | 0,150 |
| 6D | 0,308 | 0,130 | 0,082 | 0,537 | 0,108 | 0,146 | 0,192 | 0,089 | 0,165 |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme. ~~xxx~~ = outlier.

Obs.1: O isolado 6D foi avaliado nas placas do abatedouro frigorífico B.

Obs.2: Foi considerada a classificação de dois resultados iguais, dentre os 3 da triplicata, para o resultado final ou o valor médio em caso das 3 reações da triplicata serem diferentes.

APÊNDICE IV - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* OBTIDOS DE CARCAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO.

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0.075 | DO _i ≤ 0.066 | DO _i ≤ 0.068 | DO _i ≤ 0.078 | DO _i ≤ 0.063 | DO _i ≤ 0.061 | DO _i ≤ 0.067 | DO _i ≤ 0.069 | DO _i ≤ 0.087 |
| FF | 0.075 < DO _i ≤ 0.150 | 0.066 < DO _i ≤ 0.132 | 0.068 < DO _i ≤ 0.136 | 0.078 < DO _i ≤ 0.156 | 0.063 < DO _i ≤ 0.126 | 0.061 < DO _i ≤ 0.122 | 0.067 < DO _i ≤ 0.134 | 0.069 < DO _i ≤ 0.138 | 0.087 < DO _i ≤ 0.174 |
| FM | 0.150 < DO _i ≤ 0.300 | 0.132 < DO _i ≤ 0.264 | 0.136 < DO _i ≤ 0.272 | 0.156 < DO _i ≤ 0.312 | 0.126 < DO _i ≤ 0.252 | 0.122 < DO _i ≤ 0.244 | 0.134 < DO _i ≤ 0.268 | 0.138 < DO _i ≤ 0.276 | 0.174 < DO _i ≤ 0.348 |
| FFO | 0.300 < DO _i | 0.264 < DO _i | 0.272 < DO _i | 0.312 < DO _i | 0.252 < DO _i | 0.244 < DO _i | 0.268 < DO _i | 0.276 < DO _i | 0.348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| CN | 0,078 | 0,064 | 0,067 | 0,078 | 0,062 | 0,06 | 0,072 | 0,074 | 0,099 |
| CN | 0,077 | 0,065 | 0,068 | 0,078 | 0,061 | 0,061 | 0,061 | 0,068 | 0,084 |
| CN | 0,070 | 0,069 | 0,068 | 0,077 | 0,065 | 0,062 | 0,068 | 0,066 | 0,079 |
| 7A | 0,561 | 0,525 | 0,219 | 0,444 | 0,275 | 0,469 | 0,284 | 0,299 | 0,411 |
| 7A | 0,881 | 0,472 | 0,323 | 0,456 | 0,328 | 0,455 | 0,255 | 0,295 | 0,321 |
| 7A | 2,028 | 0,471 | 0,335 | 0,369 | 0,345 | 0,473 | 0,229 | 0,318 | 0,562 |
| 7B | 0,346 | 0,158 | 0,168 | 0,306 | 0,292 | 0,366 | 0,292 | 0,209 | 0,552 |
| 7B | 0,320 | 0,14 | 0,156 | 0,274 | 0,292 | 0,332 | 0,317 | 0,179 | 0,643 |
| 7B | 0,236 | 0,117 | 0,123 | 0,26 | 0,164 | 0,275 | 0,276 | 0,202 | 0,481 |
| 7C | 0,216 | 0,431 | 0,199 | 0,312 | 0,064 | 0,13 | 0,068 | 0,068 | 0,157 |
| 7C | 0,275 | 0,39 | 0,191 | 0,295 | 0,069 | 0,105 | 0,069 | 0,079 | 0,19 |
| 7C | 0,475 | 0,402 | 0,244 | 0,265 | 0,064 | 0,115 | 0,069 | 0,07 | 0,136 |
| 7D | 0,191 | 0,169 | 0,134 | 0,235 | 0,268 | 0,303 | 0,304 | 0,098 | 0,968 |
| 7D | 0,418 | 0,143 | 0,149 | 0,254 | 0,216 | 0,326 | 0,304 | 0,096 | 0,762 |
| 7D | 0,367 | 0,147 | 0,115 | 0,248 | 0,159 | 0,298 | 0,276 | 0,097 | 0,369 |
| 7E | 0,070 | 0,071 | 0,075 | 0,076 | 0,06 | 0,046 | 0,062 | 0,073 | 0,106 |
| 7E | 0,077 | 0,069 | 0,082 | 0,067 | 0,057 | 0,063 | 0,064 | 0,064 | 0,092 |
| 7E | 0,068 | 0,088 | 0,073 | 0,083 | 0,062 | 0,064 | 0,071 | 0,068 | 0,123 |
| 8A | 0,137 | 0,101 | 0,081 | 0,086 | 0,056 | 0,063 | 0,072 | 0,073 | 0,282 |
| 8A | 0,137 | 0,085 | 0,073 | 0,13 | 0,062 | 0,078 | 0,067 | 0,07 | 0,174 |
| 8A | 0,122 | 0,097 | 0,093 | 0,079 | 0,064 | 0,079 | 0,067 | 0,069 | 0,198 |

(continuação)

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0,075 | DO _i ≤ 0,066 | DO _i ≤ 0,068 | DO _i ≤ 0,078 | DO _i ≤ 0,063 | DO _i ≤ 0,061 | DO _i ≤ 0,067 | DO _i ≤ 0,069 | DO _i ≤ 0,087 |
| FF | 0,075 < DO _i ≤ 0,150 | 0,066 < DO _i ≤ 0,132 | 0,068 < DO _i ≤ 0,136 | 0,078 < DO _i ≤ 0,156 | 0,063 < DO _i ≤ 0,126 | 0,061 < DO _i ≤ 0,122 | 0,067 < DO _i ≤ 0,134 | 0,069 < DO _i ≤ 0,138 | 0,087 < DO _i ≤ 0,174 |
| FM | 0,150 < DO _i ≤ 0,300 | 0,132 < DO _i ≤ 0,264 | 0,136 < DO _i ≤ 0,272 | 0,156 < DO _i ≤ 0,312 | 0,126 < DO _i ≤ 0,252 | 0,122 < DO _i ≤ 0,244 | 0,134 < DO _i ≤ 0,268 | 0,138 < DO _i ≤ 0,276 | 0,174 < DO _i ≤ 0,348 |
| FFO | 0,300 < DO _i | 0,264 < DO _i | 0,272 < DO _i | 0,312 < DO _i | 0,252 < DO _i | 0,244 < DO _i | 0,268 < DO _i | 0,276 < DO _i | 0,348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| 8B | 0,177 | 0,225 | 0,213 | 0,148 | 0,124 | 0,107 | 0,084 | 0,082 | 0,085 |
| 8B | 0,137 | 0,193 | 0,211 | 0,099 | 0,101 | 0,092 | 0,079 | 0,076 | 0,084 |
| 8B | 0,188 | 0,184 | 0,181 | 0,111 | 0,127 | 0,107 | 0,087 | 0,077 | 0,084 |
| 8C | 0,243 | 0,233 | 0,166 | 0,084 | 0,072 | 0,225 | 0,062 | 0,073 | 0,497 |
| 8C | 0,270 | 0,209 | 0,144 | 0,097 | 0,072 | 0,349 | 0,066 | 0,074 | 0,344 |
| 8C | 0,288 | 0,188 | 0,112 | 0,90 | 0,069 | 0,346 | 0,067 | 0,076 | 0,424 |
| 8D | 0,328 | 0,232 | 0,189 | 0,267 | 0,21 | 0,5 | 0,647 | 1,607 | 1,706 |
| 8D | 0,499 | 0,295 | 0,454 | 0,199 | 0,25 | 0,51 | 0,818 | 0,705 | 1,901 |
| 8D | 0,592 | 0,226 | 0,321 | 0,177 | 0,245 | 0,476 | 0,554 | 0,765 | 1,845 |
| 8E | 0,224 | 0,156 | 0,113 | 0,106 | 0,116 | 0,147 | 0,087 | 0,365 | 0,317 |
| 8E | 0,242 | 0,12 | 0,129 | 0,129 | 0,081 | 0,135 | 0,085 | 0,136 | 0,321 |
| 8E | 0,325 | 0,156 | 0,101 | 0,147 | 0,082 | 0,118 | 0,107 | 0,119 | 0,439 |
| 9A | 0,214 | 0,139 | 0,074 | 0,193 | 0,083 | 0,078 | 0,074 | 0,072 | 0,143 |
| 9A | 0,168 | 0,109 | 0,072 | 0,154 | 0,08 | 0,122 | 0,072 | 0,077 | 0,13 |
| 9A | 0,145 | 0,098 | 0,075 | 0,139 | 0,102 | 0,103 | 0,065 | 0,071 | 0,159 |
| 9B | 0,099 | 0,129 | 0,078 | 0,073 | 0,072 | 0,083 | 0,069 | 0,069 | 0,109 |
| 9B | 0,422 | 0,083 | 0,073 | 0,082 | 0,059 | 0,086 | 0,062 | 0,08 | 0,096 |
| 9B | 0,124 | 0,086 | 0,08 | 0,08 | 0,06 | 0,088 | 0,072 | 0,079 | 0,113 |
| 9C | 0,080 | 0,083 | 0,173 | 0,215 | 0,48 | 0,137 | 0,364 | 0,218 | 0,165 |
| 9C | 0,096 | 0,088 | 0,159 | 0,177 | 0,438 | 0,15 | 0,371 | 0,344 | 0,134 |
| 9C | 0,086 | 0,1 | 0,186 | 0,41 | 0,941 | 0,151 | 0,349 | 0,341 | 0,145 |
| 9D | 0,331 | 0,447 | 0,302 | 0,145 | 0,235 | 0,584 | 0,12 | 0,214 | 0,626 |
| 9D | 0,423 | 0,567 | 0,312 | 0,136 | 0,205 | 0,56 | 0,123 | 0,234 | 0,689 |
| 9D | 0,354 | 0,493 | 0,282 | 0,167 | 0,202 | 0,674 | 0,125 | 0,187 | 0,72 |
| 9E | 0,129 | 0,105 | 0,076 | 0,117 | 0,072 | 0,074 | 0,067 | 0,062 | 0,186 |
| 9E | 0,119 | 0,105 | 0,075 | 0,109 | 0,071 | 0,108 | 0,071 | 0,066 | 0,178 |
| 9E | 0,180 | 0,088 | 0,071 | 0,109 | 0,078 | 0,09 | 0,067 | 0,067 | 0,194 |
| 10A | 0,116 | 0,095 | 0,079 | 0,077 | 0,078 | 0,152 | 0,059 | 0,08 | 0,071 |
| 10A | 0,073 | 0,09 | 0,078 | 0,072 | 0,067 | 0,176 | 0,062 | 0,076 | 0,076 |
| 10A | 0,079 | 0,096 | 0,082 | 0,081 | 0,073 | 0,193 | 0,066 | 0,079 | 0,076 |
| 10B | 0,117 | 0,077 | 0,083 | 0,075 | 0,061 | 0,086 | 0,062 | 0,076 | 0,085 |
| 10B | 0,137 | 0,081 | 0,076 | 0,075 | 0,063 | 0,096 | 0,076 | 0,088 | 0,092 |

(continuação)

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DOn = 0,075 | DOn = 0,066 | DOn = 0,068 | DOn = 0,078 | DOn = 0,063 | DOn = 0,061 | DOn = 0,067 | DOn = 0,069 | DOn = 0,087 |
| NF | DOi ≤ 0,075 | DOi ≤ 0,066 | DOi ≤ 0,068 | DOi ≤ 0,078 | DOi ≤ 0,063 | DOi ≤ 0,061 | DOi ≤ 0,067 | DOi ≤ 0,069 | DOi ≤ 0,087 |
| FF | 0,075 < DOi ≤ 0,150 | 0,066 < DOi ≤ 0,132 | 0,068 < DOi ≤ 0,136 | 0,078 < DOi ≤ 0,156 | 0,063 < DOi ≤ 0,126 | 0,061 < DOi ≤ 0,122 | 0,067 < DOi ≤ 0,134 | 0,069 < DOi ≤ 0,138 | 0,087 < DOi ≤ 0,174 |
| FM | 0,150 < DOi ≤ 0,300 | 0,132 < DOi ≤ 0,264 | 0,136 < DOi ≤ 0,272 | 0,156 < DOi ≤ 0,312 | 0,126 < DOi ≤ 0,252 | 0,122 < DOi ≤ 0,244 | 0,134 < DOi ≤ 0,268 | 0,138 < DOi ≤ 0,276 | 0,174 < DOi ≤ 0,348 |
| FFO | 0,300 < DOi | 0,264 < DOi | 0,272 < DOi | 0,312 < DOi | 0,252 < DOi | 0,244 < DOi | 0,268 < DOi | 0,276 < DOi | 0,348 < DOi |
| Isolados | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi | DOi |
| 10B | 0,120 | 0,093 | 0,088 | 0,076 | 0,067 | 0,085 | 0,083 | 0,074 | 0,09 |
| 10C | 0,227 | 0,095 | 0,081 | 0,068 | 0,07 | 0,081 | 0,084 | 0,086 | 0,193 |
| 10C | 0,187 | 0,114 | 0,076 | 0,069 | 0,064 | 0,074 | 0,072 | 0,077 | 0,216 |
| 10C | 0,107 | 0,14 | 0,091 | 0,072 | 0,065 | 0,084 | 0,069 | 0,096 | 0,206 |
| 10D | 0,103 | 0,127 | 0,205 | 0,199 | 0,09 | 0,163 | 0,11 | 0,073 | 0,106 |
| 10D | 0,103 | 0,135 | 0,099 | 0,169 | 0,092 | 0,081 | 0,126 | 0,07 | 0,108 |
| 10D | 0,137 | 0,173 | 0,116 | 0,311 | 0,119 | 0,082 | 0,16 | 0,068 | 0,106 |
| 10E | 0,286 | 0,118 | 0,208 | 0,601 | 0,152 | 0,218 | 0,068 | 0,134 | 0,102 |
| 10E | 0,193 | 0,181 | 0,278 | 0,545 | 0,293 | 0,247 | 0,066 | 0,138 | 0,122 |
| 10E | 0,156 | 0,191 | 0,27 | 0,368 | 0,432 | 0,219 | 0,068 | 0,122 | 0,091 |
| 11A | 0,132 | 0,153 | 0,243 | 0,252 | 0,272 | 0,349 | 0,244 | 0,358 | 0,593 |
| 11A | 0,159 | 0,156 | 0,375 | 0,198 | 0,176 | 0,311 | 0,211 | 0,35 | 0,593 |
| 11A | 0,124 | 0,157 | 0,131 | 0,184 | 0,243 | 0,269 | 0,245 | 0,317 | 0,586 |
| 11B | 0,158 | 0,146 | 0,12 | 0,185 | 0,265 | 0,24 | 0,314 | 0,365 | 0,641 |
| 11B | 0,186 | 0,164 | 0,098 | 0,239 | 0,254 | 0,237 | 0,263 | 0,264 | 0,616 |
| 11B | 0,158 | 0,179 | 0,101 | 0,22 | 0,194 | 0,294 | 0,233 | 0,281 | 0,679 |
| 11C | 0,142 | 0,114 | 0,099 | 0,082 | 0,233 | 0,377 | 0,075 | 0,271 | 0,636 |
| 11C | 0,492 | 0,143 | 0,096 | 0,08 | 0,173 | 0,323 | 0,13 | 0,262 | 0,657 |
| 11C | 0,582 | 0,113 | 0,092 | 0,08 | 0,207 | 0,394 | 0,078 | 0,288 | 0,815 |
| 11D | 0,157 | 0,187 | 0,194 | 0,393 | 0,281 | 0,243 | 0,102 | 0,089 | 0,538 |
| 11D | 0,206 | 0,157 | 0,198 | 0,235 | 0,228 | 0,22 | 0,105 | 0,087 | 0,325 |
| 11D | 0,173 | 0,127 | 0,112 | 0,158 | 0,276 | 0,275 | 0,086 | 0,098 | 0,433 |
| 11E | 0,166 | 0,127 | 0,141 | 0,117 | 0,25 | 0,309 | 0,24 | 0,097 | 0,646 |
| 11E | 0,174 | 0,165 | 0,128 | 0,149 | 0,265 | 0,3 | 0,213 | 0,101 | 0,648 |
| 11E | 0,109 | 0,129 | 0,127 | 0,135 | 0,195 | 0,284 | 0,177 | 0,103 | 0,522 |
| 12A | 0,146 | 0,122 | 0,13 | 0,18 | 0,161 | 0,229 | 0,344 | 0,311 | 0,568 |
| 12A | 0,586 | 0,177 | 0,138 | 0,139 | 0,187 | 0,224 | 0,292 | 0,309 | 0,72 |
| 12A | 0,126 | 0,129 | 0,104 | 0,125 | 0,203 | 0,229 | 0,264 | 0,312 | 0,745 |
| 12B | 0,161 | 0,097 | 0,09 | 0,107 | 0,075 | 0,292 | 0,078 | 0,092 | 0,35 |
| 12B | 0,155 | 0,214 | 0,092 | 0,1 | 0,081 | 0,313 | 0,085 | 0,094 | 0,426 |
| 12B | 0,250 | 0,176 | 0,102 | 0,121 | 0,083 | 0,393 | 0,072 | 0,096 | 0,403 |
| 12D | 0,205 | 0,127 | 0,088 | 0,104 | 0,103 | 0,089 | 0,078 | 0,095 | 0,374 |
| 12D | 0,181 | 0,158 | 0,082 | 0,105 | 0,13 | 0,082 | 0,075 | 0,09 | 0,347 |
| 12D | 0,138 | 0,128 | 0,087 | 0,102 | 0,082 | 0,079 | 0,076 | 0,101 | 0,409 |

(continuação)

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0.075 | DO _i ≤ 0.066 | DO _i ≤ 0.068 | DO _i ≤ 0.078 | DO _i ≤ 0.063 | DO _i ≤ 0.061 | DO _i ≤ 0.067 | DO _i ≤ 0.069 | DO _i ≤ 0.087 |
| FF | 0.075 < DO _i ≤ 0.150 | 0.066 < DO _i ≤ 0.132 | 0.068 < DO _i ≤ 0.136 | 0.078 < DO _i ≤ 0.156 | 0.063 < DO _i ≤ 0.126 | 0.061 < DO _i ≤ 0.122 | 0.067 < DO _i ≤ 0.134 | 0.069 < DO _i ≤ 0.138 | 0.087 < DO _i ≤ 0.174 |
| FM | 0.150 < DO _i ≤ 0.300 | 0.132 < DO _i ≤ 0.264 | 0.136 < DO _i ≤ 0.272 | 0.156 < DO _i ≤ 0.312 | 0.126 < DO _i ≤ 0.252 | 0.122 < DO _i ≤ 0.244 | 0.134 < DO _i ≤ 0.268 | 0.138 < DO _i ≤ 0.276 | 0.174 < DO _i ≤ 0.348 |
| FFO | 0.300 < DO _i | 0.264 < DO _i | 0.272 < DO _i | 0.312 < DO _i | 0.252 < DO _i | 0.244 < DO _i | 0.268 < DO _i | 0.276 < DO _i | 0.348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| 12E | 0,216 | 0,199 | 0,161 | 0,108 | 0,286 | 0,439 | 0,163 | 0,126 | 0,513 |
| 12E | 0,164 | 0,142 | 0,16 | 0,088 | 0,229 | 0,418 | 0,245 | 0,12 | 0,411 |
| 12E | 0,164 | 0,129 | 0,136 | 0,101 | 0,217 | 0,421 | 0,188 | 0,149 | 0,403 |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme. ~~xxx~~ = outlier.

Obs.: Foi considerada a classificação de dois resultados iguais, dentre os 3 da triplicata, para o resultado final ou o valor médio em caso das 3 reações da triplicata serem diferentes.

APÊNDICE V - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME DOS ISOLADOS DE *SALMONELLA* SPP. OBTIDOS DE CARCAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO.

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0.075 | DO _i ≤ 0.066 | DO _i ≤ 0.068 | DO _i ≤ 0.078 | DO _i ≤ 0.063 | DO _i ≤ 0.061 | DO _i ≤ 0.067 | DO _i ≤ 0.069 | DO _i ≤ 0.087 |
| FF | 0.075 < DO _i ≤ 0.150 | 0.066 < DO _i ≤ 0.132 | 0.068 < DO _i ≤ 0.136 | 0.078 < DO _i ≤ 0.156 | 0.063 < DO _i ≤ 0.126 | 0.061 < DO _i ≤ 0.122 | 0.067 < DO _i ≤ 0.134 | 0.069 < DO _i ≤ 0.138 | 0.087 < DO _i ≤ 0.174 |
| FM | 0.150 < DO _i ≤ 0.300 | 0.132 < DO _i ≤ 0.264 | 0.136 < DO _i ≤ 0.272 | 0.156 < DO _i ≤ 0.312 | 0.126 < DO _i ≤ 0.252 | 0.122 < DO _i ≤ 0.244 | 0.134 < DO _i ≤ 0.268 | 0.138 < DO _i ≤ 0.276 | 0.174 < DO _i ≤ 0.348 |
| FFO | 0.300 < DO _i | 0.264 < DO _i | 0.272 < DO _i | 0.312 < DO _i | 0.252 < DO _i | 0.244 < DO _i | 0.268 < DO _i | 0.276 < DO _i | 0.348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| 7C | 0,093 | 0,117 | 0,072 | 0,072 | 0,071 | 0,072 | 0,059 | 0,056 | 0,068 |
| 7C | 0,140 | 0,089 | 0,070 | 0,069 | 0,282 | 0,070 | 0,056 | 0,054 | 0,073 |
| 7C | 0,074 | 0,303 | 0,068 | 0,067 | 0,067 | 0,064 | 0,063 | 0,058 | 0,054 |
| 7D | 0,323 | 0,223 | 0,078 | 0,065 | 0,068 | 0,064 | 0,060 | 0,063 | 0,054 |
| 7D | 0,231 | 0,082 | 0,083 | 0,106 | 0,071 | 0,068 | 0,068 | 0,061 | 0,052 |
| 7D | 0,126 | 0,074 | 0,102 | 0,075 | 0,064 | 0,069 | 0,079 | 0,064 | 0,054 |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme. ~~xxx~~ = outlier.

Obs.: Foi considerada a classificação de dois resultados iguais, dentre os 3 da triplicata, para o resultado final ou o valor médio em caso das 3 reações da triplicata serem diferentes.

APÊNDICE VI - RESULTADOS DAS LEITURAS DAS CAPACIDADES DE FORMAÇÃO DE BIOFILME, EM TRIPLICATA, DOS ISOLADOS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* OBTIDOS DE CARCAÇAS DE SUÍNOS DO ABATEDOURO FRIGORÍFICO B, EM LEITOR DE ELISA (BIOTEK®ELX800), EM COMPRIMENTO DE ONDA DE 490 NM, DE ACORDO COM A TEMPERATURA E O TEMPO DE INCUBAÇÃO, COM OS PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILMES ANTERIOR ÀS LEITURAS, DE ACORDO COM AS TEMPERATURAS E TEMPOS DE INCUBAÇÃO.

| Classificação quanto à capacidade de formar biofilmes | Temperaturas/ tempos de incubação | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | 37 °C/ 72h | 37 °C/ 48h | 37 °C/ 24h | 24 °C/ 72h | 24 °C/ 48h | 24 °C/ 24h | 10 °C/ 72h | 10 °C/ 48h | 10 °C/ 24h |
| | DO _n = 0,075 | DO _n = 0,066 | DO _n = 0,068 | DO _n = 0,078 | DO _n = 0,063 | DO _n = 0,061 | DO _n = 0,067 | DO _n = 0,069 | DO _n = 0,087 |
| NF | DO _i ≤ 0.075 | DO _i ≤ 0.066 | DO _i ≤ 0.068 | DO _i ≤ 0.078 | DO _i ≤ 0.063 | DO _i ≤ 0.061 | DO _i ≤ 0.067 | DO _i ≤ 0.069 | DO _i ≤ 0.087 |
| FF | 0.075 < DO _i ≤ 0.150 | 0.066 < DO _i ≤ 0.132 | 0.068 < DO _i ≤ 0.136 | 0.078 < DO _i ≤ 0.156 | 0.063 < DO _i ≤ 0.126 | 0.061 < DO _i ≤ 0.122 | 0.067 < DO _i ≤ 0.134 | 0.069 < DO _i ≤ 0.138 | 0.087 < DO _i ≤ 0.174 |
| FM | 0.150 < DO _i ≤ 0.300 | 0.132 < DO _i ≤ 0.264 | 0.136 < DO _i ≤ 0.272 | 0.156 < DO _i ≤ 0.312 | 0.126 < DO _i ≤ 0.252 | 0.122 < DO _i ≤ 0.244 | 0.134 < DO _i ≤ 0.268 | 0.138 < DO _i ≤ 0.276 | 0.174 < DO _i ≤ 0.348 |
| FFO | 0.300 < DO _i | 0.264 < DO _i | 0.272 < DO _i | 0.312 < DO _i | 0.252 < DO _i | 0.244 < DO _i | 0.268 < DO _i | 0.276 < DO _i | 0.348 < DO _i |
| Isolados | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i | DO_i |
| 8C | 0,171 | 0,147 | 0,214 | 0,135 | 0,090 | 0,100 | 0,098 | 0,073 | 0,100 |
| 8C | 0,139 | 0,454 | 0,201 | 0,108 | 0,081 | 0,089 | 0,090 | 0,075 | 0,069 |
| 8C | 0,138 | 0,141 | 0,253 | 0,126 | 0,085 | 0,087 | 0,078 | 0,075 | 0,074 |
| 12D | 0,140 | 0,172 | 0,288 | 0,116 | 0,095 | 0,091 | 0,090 | 0,082 | 0,066 |
| 12D | 0,117 | 0,130 | 0,162 | 0,103 | 0,102 | 0,087 | 0,086 | 0,080 | 0,085 |
| 12D | 0,175 | 0,124 | 0,209 | 0,120 | 0,093 | 0,085 | 0,101 | 0,080 | 0,063 |

NF = não formador de biofilme; FF = fraco formador de biofilme; FM = formador de biofilme moderado; FFO = forte formador de biofilme. ~~xxx~~ = outlier.

Obs.: Foi considerada a classificação de dois resultados iguais, dentre os 3 da triplicata, para o resultado final ou o valor médio em caso das 3 reações da triplicata serem diferentes.