

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE

Estudo *in vitro* da ação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio
sobre *Enterococcus faecalis*

Mateus de Oliveira Negreiros

Orientadora: Ana Paula Guedes Frazzon

Trabalho de Conclusão de Curso, para obtenção do
título de Bacharel em Ciências Biológicas, apresentado
conforme as normas da Revista Trópica – Ciências
Agrárias e Biológicas.

Porto Alegre, 2011

Estudo *in vitro* da ação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre *Enterococcus faecalis*

Mateus de Oliveira Negreiros¹, Jeverson Frazzon¹ e Ana Paula Guedes Frazzon¹

Resumo - Enterococos são cocos Gram-positivos, membros da microbiota humana e animal, sendo também encontrados em alimentos, solo e água. A resistência de enterococos a antibióticos têm sido muito estudada em amostras alimentares, ambientais e clínicas, porém poucos relatos avaliam a ação de biocidas sobre esses microrganismos. O hipoclorito de sódio (NaOCl) é um desinfetante muito utilizado na indústria de alimentos para destruir microrganismos existentes em superfícies do processo de fabricação. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito de duas concentrações de NaOCl (2,5% e 8,5%) sobre vinte e dois *Enterococcus faecalis* isolados de carne de frango e correlacionar com o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados. A sensibilidade das amostras de enterococos frente às diferentes concentrações de NaOCl (exposição de 10 minutos a temperatura ambiente) foi realizada através da técnica dos cilindros carreadores de aço inox tipo 304. Dois isolados (9,09%) apresentaram crescimento após a exposição à concentração 8,5% de NaOCl e cinco (23%) na concentração de 2,5%. Não foi encontrada relação entre tolerância ao biocida e o perfil resistência. É importante salientar que alguns mecanismos de tolerância aos biocidas podem ser transferíveis para outras células bacterianas e se tornar um grande problema de saúde pública.

Palavras Chaves: enterococos, tolerância, hipoclorito de sódio.

In vitro study of different concentrations of sodium hypochlorite in *Enterococcus faecalis*

Abstract - Enterococci are Gram-positive cocci, members of the microbiota and feed, also found in food, soil and water. The resistance of enterococci to antibiotics has been widely studied in food samples, environmental and clinical, however, few reports have evaluated the action of these biocides on this microorganisms. Sodium hypochlorite (NaOCl) is a disinfectant widely used in the food industry to eliminate bacterial on surfaces of the manufacturing process. The aim of this study was to investigate the effect of two concentrations of NaOCl (2.5% and 8.5%) over twenty-two *Enterococcus faecalis* isolates from chicken meat poultry and correlate with the antimicrobial resistance profile of isolates strains. The sensitivity of the samples enterococos against the different concentrations of NaOCl (exposure of 10 minutes at room temperature) was performed through the cylinder carriers of type 304 stainless steel. Two isolates (9.09%) showed grow before exposure to a concentration of 8.5% NaOCl and five (23%) at a concentration of 2.5%. No relationship was found between biocide tolerance and resistance profile. It is noteworthy that some mechanisms of tolerance to biocides may be transferable to other bacterial cells and become a major public health problem in the future.

Key words: enterococci, tolerance, sodium hypochlorite

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. mateusng@hotmail.com; ana.frazzon@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

Os representantes do gênero *Enterococcus* são membros da microbiota do trato gastrointestinal de homens e animais, encontrados também em alimentos, água e solo (Riboldi et al., 2009; Cassenego et al., 2011; Valenzuela et al., 2008). Atualmente, são conhecidas mais de 41 espécies pertencentes ao gênero *Enterococcus*, sendo que *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* representam cerca de 80 a 90% e 5 a 15% das causas de infecções clínicas em humanos, respectivamente (Euzéby, 2011; d'Azevedo et al., 2006). Os *Enterococcus* são tolerantes ao calor e crescem em altas concentrações de cloreto de sódio e de sais biliares. Conseqüentemente espera-se que eles sejam resistentes a desinfetantes físicos e químicos (Fraise, 2002). Uma característica importante desses microrganismos é a resistência intrínseca a uma gama de antimicrobianos, como as penicilinas semisintéticas, cefalosporinas, baixos níveis de aminoglicosídeos e clindamicina. Além disso, possuem a capacidade de aquisição de genes de resistência, o que pode ocorrer por conjugação ou mutações no DNA, apresentando resistência adquirida à antibióticos como cloranfenicol, eritromicina, altos níveis de clindamicina e aminoglicosídeos, tetraciclina, fluorquinolonas e vancomicina (Murray, 1990; Kayser, 2003). Por sua ampla distribuição em animais e no ambiente, *E. faecalis* e *E. faecium* são utilizados como indicadores de contaminação fecal e como índice de saneamento (Keeratipibul et al., 2010).

A carne, principalmente a de frango, quando fresca serve como excelente substrato para o desenvolvimento de microrganismos. As operações de abate como a escaldagem, a depenagem e a evisceração têm sido consideradas as maiores fontes de contaminação em carcaças de aves (Brasil, 1988; Cânoa, 2008; Kraszczuk, 2010). A contaminação pode ser a principal responsável tanto por perdas econômicas, provocadas pela deterioração da carne, como pelos problemas ligados a saúde do consumidor, em função da ingestão de bactérias patogênicas ou toxinas por elas produzidas. O local de abate e manipulação da carne deve seguir normas higiênicas, como a desinfecção das superfícies no abate com hipoclorito de sódio (NaOCl) ou compostos quaternários de amônio (Silva et al., 2001), além do uso de vestimentas adequadas, como equipamentos de proteção individual, por parte dos operários da linha de produção (Brasil, 1988).

Na indústria alimentícia, a desinfecção tem por objetivo eliminar microrganismos patogênicos fazendo uso de métodos físicos e químicos. Na escolha de um desinfetante, deve-se considerar características como o local e as superfícies a serem desinfetadas, as condições de limpeza possíveis de serem alcançadas antes da desinfecção, o agente a ser destruído, o tempo de contato e a temperatura. No entanto, não existe um desinfetante ideal. O uso de um único princípio ativo pode levar ao desenvolvimento de microrganismos tolerantes, por isso recomenda-se o rodízio

de diferentes princípios ativos para evitar essa tolerância (Jaenisch et al., 2004; Manual de Higienização na Indústria Alimentar, 2011).

A presença de *Enterococcus* no trato gastrointestinal de animais pode torná-lo um potencial contaminante da carne durante o abate. *E. faecalis* predomina entre as espécies isoladas de amostras de frango em abatedouros de aves (Franz et al., 2003) e também está associada a carnes processadas (Moreno et al., 2006). Keeratipibul et al. (2010) estudando a prevalência de *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. em produtos de carne de frango, encontraram a presença desses microrganismos em superfícies que entram em contato com a carne. Estudos têm indicado uma incidência de *Enterococcus* em produtos cárneos que pode alcançar até 100% (Hayes et al., 2003; MacGowan et al., 2006). Em estudo realizado no Brasil em 2008, a prevalência de *Enterococcus* foi de 60% em produtos à base de carne (Gomes et al., 2008). Assim, a cadeia alimentar pode ser uma fonte importante de disseminação de enterococos resistentes ou de seus genes para as bactérias da microbiota do trato gastrointestinal de humanos.

Sabe-se que pelo menos alguns mecanismos gerais responsáveis pela resistência a antibióticos são também aplicáveis a biocidas, existindo a possibilidade de resistência cruzada entre antibióticos e biocidas (Russel, 2002). Embora a resistência bacteriana a antibióticos seja bem estudada, apenas poucos relatos estão disponíveis sobre a ação de desinfetantes contra microrganismos (Guimarães et al., 2000). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade de *E. faecalis* isolados de carne de frango frente a concentrações de 2,5% e 8,5% de NaOCl e correlacionar com a resistência a agentes antimicrobianos previamente determinada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Vinte e dois *E. faecalis* isolados de amostras de carne de frango selecionados da Bacterioteca do Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS foram utilizados nesse estudo. Todos os isolados haviam sido previamente confirmados para o gênero pela técnica de PCR utilizando o *primer tuf* e identificados em nível de espécie através de testes bioquímicos. Os isolados foram escolhidos com base no perfil de susceptibilidade apresentado frente aos agentes antimicrobianos ciprofloxacina, cloranfenicol, eritromicina, gentamicina e tetraciclina, determinado por Frazzon et al., 2010, de modo a testarmos isolados com diferentes padrões de resistência.

A susceptibilidade das amostras de enterococos frente às diferentes concentrações de hipoclorito de sódio foi realizada através da técnica dos cilindros carreadores preconizada pela “Association of Official Analytical Chemists International” utilizada pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Esse método consiste no uso de dez cilindros de aço inox tipo 304

por desinfetante, os quais foram mergulhados em uma suspensão bacteriana de densidade óptica (OD_{600}) 0.4 – 0.6. Após 15 minutos, os cilindros foram removidos e deixados para secar a 37°C por 40 min. Os cilindros carreadores contendo os enterococos foram mergulhados em uma solução de 2,5% ou 8,5% de NaOCl ou solução salina (controle positivo) e incubados por 10 min. à temperatura ambiente, como preconizado pelo fabricante. Transcorrido esse tempo, os cilindros foram transferidos para uma solução neutralizadora de 0,6% de tiosulfato de sódio por 40 min. Após a neutralização, cada cilindro foi colocado em um tubo contendo caldo de infusão de cérebro e coração (BHI-Himedia Laboratories Ltd., India) e incubado a 37°C por 48h. O resultado positivo era baseado na turbidez apresentada nos tubos após o período de incubação, e o isolado era considerado tolerante ao desinfetante quando pelo menos um dos tubos contendo um cilindro apresentava crescimento.

Para verificar se nenhuma das soluções utilizadas nos experimentos estava contaminada, foi realizado um teste das soluções. Com o auxílio de uma alça de platina, estriou-se, o desinfetante NaOCl nas concentrações de 2,5% e 8,5%, a solução de tiosulfato de sódio e a solução salina em cada teste em meio ágar BHI. O período de incubação foi o mesmo do teste, 48h a 37°C.

A comparação entre o perfil de isolados suscetíveis e não suscetíveis aos agentes antimicrobianos e tolerância aos desinfetantes foi realizada por meio do teste de qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 22 *E. faecalis* isolados de amostras de frango foram avaliados quanto a susceptibilidade frente as concentrações de 8,5% e 2,5% de NaOCl (tabela 1). A concentração de 8,5% de NaOCl se mostrou mais eficiente em inibir o crescimento dos isolados, entretanto dois isolados (9,09%) apresentaram um ou mais carreadores positivos após a exposição ao hipoclorito de sódio. A concentração de 2,5% se mostrou menos eficiente que a de 8,5%, pois cinco isolados (23%) apresentaram crescimento após a exposição ao biocida. Não foi encontrada diferença significativa entre as duas concentrações testadas ($p>0.05$). Todos os isolados cresceram na presença da solução salina e nenhuma das soluções utilizadas nos testes apresentou-se contaminada.

O hipoclorito de sódio está entre os desinfetantes liberados para utilização em superfícies de ambientes onde são manipulados os alimentos (Brasil, 1988). O cloro tem sido o composto mais utilizado para garantir a qualidade microbiológica da água e dos alimentos, bem como para aumentar a vida útil dos produtos processados (Andrade et al., 1996). O ácido hipocloroso (HClO) pode causar a oxidação dos grupos sulfidril (-SH) de certas enzimas que participam da via glicolítica e o rompimento de sistemas vitais, como transportadores de membrana e síntese de DNA

(Keeratipibul et. al., 2010). Arruda, 2007 observou que isolados de *E. faecalis* foram inativados após a exposição à NaOCl na concentração de 2,5% por 10 minutos. Outros estudos também mostraram a eficácia do NaOCl sobre *E. faecalis* e outros microrganismos (Sassone et al., 2008; Gomes et al., 2010; Ibrahim et al., 2008). Ayhan et al. (1999), testaram duas concentrações de NaOCl (0,5% e 5,25%) sobre microrganismos comumente encontrados em sistemas de canais radiculares, entre eles *E. faecalis*, e verificaram que a maior concentração NaOCl resultou em uma diminuição significativa no crescimento da bactéria.

Tabela 1: Avaliação do crescimento dos isolados de *E. faecalis* expostos as concentrações de hipoclorito de sódio e a solução salina e perfil de resistência aos antibióticos previamente testados.

ISOLADOS	2,5% NaOCl	8,5% NaOCl	Salina	Perfil de resistência
E5	-	-	+	Eri+Gen
E7	-	-	+	S
14	+	-	+	Eri+Tet
15	-	-	+	Eri+Tet+Clo
19	+	+	+	Tet+ Clo
22	+	-	+	Eri+Tet+Cip
23	-	-	+	Tet+ Clo
24	+	+	+	Tet+ Clo
25	-	-	+	Eri+Tet
26	-	-	+	Eri+Tet+Clo
27	+	-	+	Eri+Clo+Tet
30	-	-	+	Eri+Tet+Clo
32	-	-	+	Tet+ Clo
33	-	-	+	Tet+Clo
34	-	-	+	Tet+ Clo
35	-	-	+	Tet+ Clo
38	-	-	+	Tet
39	-	-	+	Tet+ Clo
40	-	-	+	Tet
41	-	-	+	Tet
42	-	-	+	Tet+ Clo
43	-	-	+	Tet+ Clo+Cip

Legenda: eritromicina (Eri), ciprofloxacina (Cip), cloranfenicol (Clo), tetraciclina (Tet) e gentamicina (Gen), susceptível (S). +: um ou mais carreadores apresentaram crescimento em BHI após a exposição ao biocida ou a solução salina; -: nenhum carreador apresentou crescimento em BHI após a exposição ao biocida.

Uma observação muito importante no presente estudo foi a identificação de isolados de *E. faecalis* tolerantes as concentrações de 2,5% (25000 ppm) e 8,5% (85000ppm) de NaOCl,

concentrações acima da utilizada na indústria alimentícia. Nos Estados Unidos da América e no Reino Unido o cloro é utilizado nas formas de hipoclorito de sódio e dióxido de sódio em águas de arrefecimento e na desinfecção de superfícies e equipamentos, nas concentrações de 10 a 50 ppm. (Cânoa, 2008). No Brasil, Andrade e Macedo (1996) recomendam uma concentração de 100 a 200 ppm para essas situações.

Segundo Fraise (2002) os possíveis mecanismos de tolerância a biocidas em cocos Gram-positivos incluem bombas de efluxo, alteração do sítio alvo e mudanças na estrutura da parede celular. Diversos fatores podem influenciar a susceptibilidade dos microrganismos presentes em uma linha de abate de frango. Uma das desvantagens da utilização do cloro é que este biocida é rapidamente inativado pela matéria orgânica, tendo escassa atividade quando aplicado a superfícies de carcaças e de equipamentos sujos por resíduos durante o processo (Cânoa, 2008). Além disso, concentrações residuais de desinfetantes podem agir como um foco para sobrevivência de microrganismos tolerantes ou para uma gradual ou rápida seleção de bactérias tolerantes a biocidas (Russel, 2002). Sander (2002) relata que bactérias apresentam tolerância após uma exposição prolongada aos desinfetantes, e bactérias do mesmo gênero e espécie podem apresentar diferenças na sensibilidade frente a um mesmo desinfetante. Na indústria de alimentos, cepas tolerantes a biocidas tornam-se difíceis ou impossíveis de serem eliminadas, tornando uma potencial fonte de contaminação que pode levar a deterioração dos alimentos ou a transmissão de doenças. Até o momento, no Brasil não existem muitos estudos avaliando o perfil de tolerância de cepas de enterococos aos biocidas (Gomes, 2010; Arruda, 2007). Do mesmo modo, ao nosso conhecimento, no Brasil não existem estudos que avaliam a tolerância de *E. faecalis* isolados de carne de frango a diferentes concentrações de NaOCl.

Os isolados que apresentaram tolerância as concentrações de 8,5% e 2,5% de NaOCl também demonstraram resistência a antimicrobianos, entretanto neste estudo nenhuma relação pode ser feita com o perfil de resistência e a tolerância ao NaOCl. Romão et al. (2005), comparando dois grupos de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (susceptíveis e poucos susceptíveis a um desinfetante) não encontraram diferenças entre os grupos em relação a resistência a antibióticos. Do mesmo modo, Guimarães et al. (2000) testaram isolados de *Enterococcus* (susceptíveis e resistentes a gentamicina) obtidos de sítios cirúrgicos de infecção e não observaram qualquer relação entre susceptibilidade a antibióticos e desinfetantes. Outros estudos também não observaram relação entre susceptibilidade a antibióticos e desinfetantes (Rutala et al., 1997; Bradley et al., 1996). No entanto, Fraise (2002) verificou que cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina apresentaram reduzida sensibilidade a compostos fenólicos, possivelmente devido ao aumento da espessura da parede celular em virtude do aumento do número de sítios alvo de ação do

antibiótico. A tolerância a biocidas é mediada por mecanismos similares àqueles que medeiam à resistência a antibióticos, incluindo inativação ou modificação da droga, alteração do sítio alvo e alteração da concentração devido à diminuição da permeabilidade ou aumento do efluxo. É inevitável que cepas de enterococos apresentem resistência intrínseca a agentes químicos, embora não seja clara a relação entre resistência antimicrobiana e tolerância aos agentes químicos (Fraise, 2002).

CONCLUSÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo e detém a condição de líder mundial de exportação, fato que coloca o país em posição de destaque e aumenta a responsabilidade sobre a qualidade e a segurança sanitária dos nossos produtos. Nesse estudo, enterococos isolados de carne de frango mostram-se tolerantes a um biocida comumente utilizado nas indústrias de alimentos. No entanto, não foi encontrada relação significativa entre o padrão de tolerância as duas concentrações de hipoclorito de sódio testadas e nenhuma relação pode ser feita comparando a tolerância ao biocida e a resistência aos agentes antimicrobianos. É importante salientar que alguns mecanismos de tolerância aos biocidas podem ser transferíveis para outras células bacterianas e se tornar um grande problema no futuro.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, N.J.; MACEDO, J.A. **Higienização na Indústria de Alimentos**. São Paulo: Varela, 182 p., 1996.
- ARRUDA, T.T.P. Perfil de susceptibilidade de cepas planctônicas e biofilmes de *Enterococcus faecalis* frente a desafios antimicrobianos. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- AYHAN, H.; SULTAN, N.; CIRAK, M.; RUHI, M. Z; BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **International Endodontic Journal**, v.32, p. 99-102, 1999.
- BRADLEY, C. R.; FRAISE, A. P. Heat and chemical resistance of enterococci. **Journal of Hospital Infection** 34, 191-196, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. Portaria N° 210, de 10 de novembro de 1988. Disponível em: <http://www.abef.com.br/Legislacoes/PORTARIA210.pdf>, acesso 12/12/11.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional da Vigilância Sanitária. Portaria N° 15, de 23 de agosto de 1988. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/15_88.html, acesso 12/12/11.
- CÂNNOA, J.M.H. Requisitos para a implantação do HACCP em matadouros de aves. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.

- CASSENEGO, A.P.V.; d' AZEVEDO, P.A.; RIBEIRO, A.M.L.; FRAZZON, J.; VAN DER SAND, S.T.; FRAZZON, A.P.G. Species distribution and antimicrobial susceptibility of Enterococci isolated from broilers infected experimentally with *Eimeria* spp and fed with diets containing different supplements. **Brazilian Journal of Microbiology** 42: 480-488, 2011.
- d'AZEVEDO, P.A.; DIAS, C.A.G.; TEIXEIRA, L. M. Genetic diversity and antimicrobial resistance of enterococcal isolates from southern region of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo** 48, 11-16, 2006.
- EUZÉBY, J.P. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature – Genus *Enterococcus*. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/e/enterococcus.html>. Acesso: 15 Maio/2011.
- FRAISE, A.P. Susceptibility of antibiotic-resistant cocci to biocides. **Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement** 92, 158S-162S, 2002.
- FRANZ, C. M. A. P.; STILES, M. E.; SCHELEIFER, K. H.; HOLZAPFEL, W. H. Enterococci in foods - a conundrum for food safety. **International Journal of Food Microbiology** 88, p.105–122, 2003.
- FRAZZON, A. P. G.; GAMA, B.A.; HERMES, V.; BIERHALS, C.G.; PEREIRA, R.I.; GUEDES, A.G.; d' AZEVEDO, P.A.; FRAZZON, J. Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by tet(M) and tet(L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. **World J Microbiol Biotechnol** 26:365–370, 2010.
- GOMES, B.C.; ESTEVES, C.T.; PALAZZO, I.C.V.; DARINI, A.L.C.; FELIS, G.E.; SECHI, L.A.; FRANCO, B.D.G.M.; DE MARTINS, E.C.P. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. Isolated from Brazilian foods. **Food Microbiology** 25, 668– 675, 2008.
- GOMES, C.C.; CAMÕES, I.C.G.; FREITAS, L.F.; PINTO, S. de S.; SARAIVA, S.M.; SAMBATI, S. Avaliação do hipoclorito de sódio e da clorexidina na desinfecção de cones de guta-percha. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, 22(2): 94-103, 2010.
- GUIMARÃES, M.A.; TIBANA, A.; NUNES, M.P.; dos SANTOS, K.R.N. Disinfectant and antibiotic activities: a comparative analysis in Brazilian hospital bacterial isolates. **Brazilian Journal of Microbiology** 31:913-1999, 2000.
- HAYES, J.R.; ENGLISH, L.L.; CARTER, P.J.; PROESCHOLDT, T.; LEE, K.Y.; WAGNER, D.D.; WHITE, D.G. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Species Isolated from Retail Meats. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 7153-7160, 2003.
- IBRAHIM, N.Z.; ABDULLAH, M. Antimicrobial evaluation of sodium hypochlorite and ozonated water on *E. faecalis* biofilm. **Annal Dent Univ Malaya** 15(1): 20-26, 2008.
- JAENISCH, F.R.F.; COLDEBELLA, A.; MACHADO, H.G.P.; ABREU, P.G. de; ABREU, V.M.N.; SANTIAGO, V. **Importância da higienização na produção avícola**. Comunicado Técnico. Embrapa, Concórdia, Santa Catarina. 2004.
- KAYSER, F. H. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. **Int. J. Food Microbiol.** 88, 255-262, 2003.
- KEERATIPIBUL, S.; MEETHONG, S.; TECHARUWICHIT, P.; THEPHUTTEE, N. Prevalence of *Escherichia coli* and enterococci in a Thai frozen cooked chicken plant, and modeling of the cleaning and sanitizing procedure. **Food Control** 21, 1104–1112, 2010.
- KRASZCZUK, V. Verificação do processo de higienização pré-operacional de um abatedouro de aves. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MACGOWAN, L.L.; JACKSON, C.R.; BARRET, J.B.; HIOTT, L.M.; FEDORKA-CRAY, P.J. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail fruits, vegetables, and meats. **Journal of Food Protection**. v.69, n.12, p.2976-2982, 2006.

Manual de Higienização na Indústria Alimentar. Disponível em: http://www.esac.pt/noronha/manuais/Manual_higienizao_aesbuc.pdf, acesso 12/12/2011.

MORENO, M. R. F.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. **International Journal of Food Microbiology** 106, 1 – 24, 2006.

MURRAY, B.E. The time and life of *Enterococcus*. **Clinical Microbiology Reviews**, Vol. 3, No. 1, p. 46-65, 1990.

RIBOLDI, G.P.; FRAZZON, J.; d'AZEVEDO, P.A.; FRAZZON, A.P.G. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp isolated from food in southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** 40: 125-128, 2009.

ROMÃO, C. M. C. P. A.; de FARIA, Y. N.; PEREIRA, L. R.; ASENSI, M. D. Susceptibility of clinical isolates of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* to a hospital disinfectant and molecular typing. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 100(5): 541-548, 2005.

RUSSEL, A.D. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: Introduction. **Journal of Applied Microbiology** Symposium Supplement 92, 1S–3S, 2002.

RUTALA, W. A.; STIEGEL, M. M.; SARUBBI, F. A.; WEBER, D. J. Susceptibility of antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant hospital bacteria to disinfectant. **Infect Control Hosp Epidemiol** 18: 417-421, 1997.

SANDER, J.E.; HOFACRE, C.L.; CHENG, I-H.; WYATT, R.D. Investigation of resistance of bacteria from commercial poultry sources to commercial disinfectants. **Avian Disiases**, Washington, v.46, p 997-100, 2002.

SASSONE, L.M.; FIDEL, R.A.S.; MURAD, C.F.; FIDEL, S.R.; HIRATA JR., R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. **Aust Endod J** 34: 19–24, 2008.

SILVA, J. A.; SOARES, L. F.; COSTA, E. L. Sanitização de Carcaças de Frango com Soluções de Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão - **Revista TeC Carnes** - Campinas, SP, v.3, n.1, p.19-26, 2001.

VALENZUELA, A.S.; OMAR, N.B.; ABRIQUEL, H.; LÓPEZ, R.L.; ORTEGA, E.; CAÑAMERO, M.M.; GALVEZ, A. Risk factors in enterococci isolated from foods in Morocco: Determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits. **Food and Chemical Toxicology**. V.46, p. 2648-2652, 2008.