

Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio

The resistance of *Salmonella* strains to the biocides peracetic acid, quaternary ammonium and sodium hypochlorite

RIALA6/1317

Taís Raquel Marcon MACHADO, Patrícia da Silva MALHEIROS*, Adriano BRANDELLI, Eduardo Cesar TONDO

*Endereço para correspondência: Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 91501-970. Fone: 51 3308 6677. E-mail: patimalheiros@yahoo.com.br
Recebido: 20.05.2010 – Aceito para publicação: 29.12.2010

RESUMO

Este estudo avaliou a resistência de três cepas de *Salmonella* frente aos desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. *S. Enteritidis* (SE86), responsável por mais de 90% dos surtos alimentares ocorridos no Rio Grande do Sul (RS), foi comparada com *S. Typhimurium* e *S. Bredeney*, ambas não envolvidas na ocorrência de salmonelose. A resistência aos desinfetantes foi avaliada por meio de teste de suspensão, conforme preconizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Todos os desinfetantes avaliados, nas concentrações indicadas pelos fabricantes, foram capazes de inativar as três cepas de *Salmonella*, entretanto, SE86 apresentou maior resistência ao hipoclorito de sódio a 400 ppm, além de ser a única cepa bacteriana capaz de sobreviver por até 15 minutos de exposição a 200 ppm desse desinfetante. Uma vez que o hipoclorito de sódio, nestas condições, é empregado com frequência como agente de desinfecção em indústrias de alimentos e serviços de alimentação, as características acima mencionadas podem contribuir para que esse microrganismo seja responsável pelos surtos de salmoneloses ocorridos no RS. Em função da importância desses micro-organismos como agentes patogênicos alimentares, cuidados especiais devem ser tomados nos processos de desinfecção e contaminação cruzada por *Salmonella*.

Palavras-chave. *Salmonella*, ácido peracético, hipoclorito de sódio, quaternário de amônio.

ABSTRACT

The resistance of *Salmonella* strains to the biocides peracetic acid, quaternary ammonium and sodium hypochlorite was assessed. *S. Enteritidis* (SE86), which is responsible for more than 90% of food-borne outbreaks occurred in Rio Grande do Sul (RS) was compared to *S. Typhimurium* and *S. Bredeney*, both not related to salmonellosis. The bacterial resistance to biocides was evaluated using the suspension test as recommended by The Brazilian Agriculture Ministry. The three biocides were able to inactivate all of the microorganisms tested, when the concentrations indicated by the manufacturers were used. However, SE86 was resistant to 400 ppm sodium hypochlorite, and survived for up to 15 minutes of exposure to 200 ppm of this biocide, which was not demonstrated by the other bacteria strains. Since the sodium hypochlorite, at such concentration and time of exposure, is frequently used at food industries and food services, and owing to the above cited resistance characteristic, this condition could be contributing for the SE86 with food-borne salmonellosis outbreak occurred in RS. In view of the importance of these microorganisms as alimentary pathogens, special cares in the food disinfection processes and cross-contamination with *Salmonella* must be taken.

Key words. *Salmonella*, peracetic acid, sodium hypochlorite, quaternary ammonium.

INTRODUÇÃO

Salmonella tem sido apontada como a principal causa bacteriana de gastroenterites em diferentes partes do mundo^{1,2}. No Brasil, um significativo aumento na incidência de salmoneloses causadas por *S. Enteritidis* tem sido observado desde a década de 90³⁻⁵. No Estado do Rio Grande do Sul (RS), análises genotípicas de isolados de *Salmonella* revelaram que apenas uma cepa de *S. Enteritidis* (SE86) esteve envolvida em mais de 90% das salmoneloses investigadas entre 1999 e 2006⁶⁻⁹. Embora muitos sorovares de *Salmonella* tenham sido isolados de diferentes alimentos no RS, as razões pelas quais SE86 vem causando a maioria dos surtos alimentares são desconhecidas.

Desinfetantes são substâncias ou preparações químicas capazes de destruir micro-organismos patogênicos, em curto espaço de tempo, quando aplicados em objetos¹⁰. Sua escolha deve ser precedida de uma análise detalhada, levando-se em conta aspectos como uso autorizado do produto pela legislação, grau de toxicidade, poder corrosivo, efeito residual sobre os alimentos, efeito sobre o meio ambiente e o custo¹¹.

O cloro e suas várias formas, provavelmente, são os compostos mais comumente utilizados para a desinfecção em indústrias de alimentos e serviços de alimentação. Tais compostos podem incluir cloro líquido, hipocloritos, compostos clorados orgânicos e inorgânicos e tem apresentado amplo espectro germicida, devido sua ação sobre a membrana celular, inibição de enzimas envolvidas no metabolismo da glicose, danos no DNA e oxidação de proteínas celulares¹². A quantidade de cloro livre que estará presente na solução dependerá do pH. Em pH igual a 8,0, cerca de 22% do cloro estão na forma ativa, enquanto que, em pH igual a 6,0, cerca de 96% do cloro estará na forma ativa¹³.

Os quaternários de amônio (QUAT) são surfactantes catiônicos amplamente utilizados como antissépticos e desinfetantes¹⁰. Como são compostos carregados positivamente, sabe-se que seu modo de ação se dá pela atração por materiais carregados negativamente ou estruturas como as proteínas bacterianas. São ativos em uma ampla faixa de temperatura e apresentam melhor atividade em pH alcalino, não tendo efeito corrosivo sobre superfícies¹².

O ácido peracético (PAA), por sua vez, tem sido amplamente utilizado nas indústrias de alimentos, sendo apontado como um potencial substituto do hipoclorito

de sódio. Uma das vantagens desse desinfetante é a não produção de resíduos tóxicos quando decomposto, não causando danos ambientais¹⁴. O PAA age desnaturando proteínas e enzimas, gerando aumento da permeabilidade da parede celular pela ruptura das pontes sulfúricas e sulfidrilas¹⁵. Para melhor eficácia desse composto, o pH deve variar entre 3 a 7,5¹⁶.

A ocorrência de linhagens resistentes a desinfetantes pode representar desafios econômicos para a indústria de alimentos e trazer implicações para a saúde pública, ainda mais quando se trata de micro-organismos com resistência cruzada a desinfetantes e a antibióticos. A resistência varia de microorganismo para microorganismo e tipicamente resulta de alterações celulares que implicam em acúmulo de biocidas, incluindo alterações do envelope celular que limita a absorção ou a expressão de mecanismos de efluxo. A expressão de genes de efluxo é regulada via plasmídeos que podem sofrer mutações cruzadas. É de extrema importância salientar a adaptação aos desinfetantes que seleciona micro-organismos intrinsecamente resistentes ao composto desinfetante aplicado. A adaptação pode ocorrer em superfícies com enxague deficiente deixando baixas concentrações de desinfetantes nas superfícies^{1,12}.

A resistência de patógenos a desinfetantes amplamente utilizados em empresas e indústrias de alimentos pode ser um dos fatores que contribuem com o envolvimento de micro-organismos específicos em surtos de origem alimentar. Em vista disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar a resistência de três cepas de *Salmonella* aos desinfetantes ácido peracético, hipoclorito de sódio e quaternário de amônio. Dentre estas cepas estão SE86 envolvidas em muitas salmoneloses ocorridas no RS, e duas outras cepas não envolvidas em salmoneloses.

MATERIAIS E MÉTODOS

Culturas bacterianas

Foram utilizadas cepas de *Salmonella enterica* de três sorovares distintos. *S. Enteritidis* (SE86) foi isolada de repolho envolvido em um surto de salmonelose ocorrido no Rio Grande do Sul, em 1999, e foi caracterizada primeiramente por Geimba et al⁶. Esta cepa apresentou o mesmo perfil genotípico caracterizado por PCR-Ribotipificação, PFGE e confirmado pelo sequenciamento da região ribossomal de mais de 90% das *S. Enteritidis* isoladas de salmoneloses investigadas pela Vigilância Sanitária do RS, entre 1999 a 2006^{2,7}. As duas outras cepas estudadas nesse trabalho foram de *S. Typhimurium* e *S.*

Bredeney, isoladas em 1999, a partir de fezes de suínos e de um embutido, respectivamente. SE86 foi gentilmente cedida pela Profa. Dra. Mercedes Passos Geimba, da Faculdade de Biociências da PUC/RS, enquanto que *S. Typhimurium* e *S. Bredeney* foram gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Marisa Itapema Cardoso, do Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Veterinária da UFRGS.

Durante os experimentos, os micro-organismos foram armazenados em Ágar Nutriente (NA) (Merck, Darmstadt, Alemanha) a 4°C. Para a realização dos inóculos, as três cepas foram cultivadas em Caldo Nutriente (NB) (Synth, São Paulo, Brasil) a 37°C, por aproximadamente 18 horas.

Desinfetantes

Foram avaliados três desinfetantes comerciais com as seguintes características:

- Produto a base de PAA composto de água, peróxido de hidrogênio, ácido acético glacial e ácido peracético (ácido peracético 14,5%);
- Produto a base de cloreto de alquil dimetil benzil amônio, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, EDTA e água (20% de cloreto de alquil dimetil benzil amônio);
- Produto a base de hipoclorito de sódio (4,0% de cloro ativo).

Antes dos experimentos, o valor do pH dos desinfetantes foi medido por meio de pHâmetro TM 125 (Schott) e as concentrações utilizadas estão demonstradas na Tabela 1.

Teste de susceptibilidade aos desinfetantes com as células em suspensão

Os micro-organismos foram incubados em Caldo Nutriente a 37°C, por aproximadamente 18 horas. Em seguida, as culturas foram diluídas em água peptonada 0,1% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) até atingirem uma concentração de aproximadamente 10⁶ UFC/mL.

Os desinfetantes concentrados foram diluídos em água destilada estéril até a maior concentração indicada pelo fabricante, adicionado de 10%, conforme preconizado pela Portaria 101/93, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento¹⁷. Também foram avaliadas concentrações menores que as indicadas pelos fabricantes, como demonstrado na Tabela 1. Em seguida, 9 mL de cada desinfetante foram colocados assepticamente em tubos de ensaio estéreis, aos quais foi adicionado 1 mL de solução de albumina bovina sérica a 1% (Oxoid, Hampshire, Inglaterra), totalizando 10 mL por tubo. Inóculos de 0,1 mL de cada cultura bacteriana foram adicionados, separadamente, aos tubos contendo cada desinfetante, sendo o tempo cronometrado, a partir desse procedimento. Após 5, 10, 15 e 20 minutos de exposição, uma alíquota de 10 µL das suspensões foi retirada e transferida para tubos contendo meio de cultura BHI (Merck, Darmstadt, Alemanha). Para avaliar a resistência dos sorovares de *Salmonella* frente aos desinfetantes, esses tubos foram incubados por 96 horas, a 37°C, verificando-se a turvação dos mesmos a cada 24 horas. No caso de turvação dos tubos, os micro-organismos foram considerados resistentes, conforme preconizado pela Portaria 101/93/MAPA¹⁷.

Tabela 1. Concentração e pH dos desinfetantes ácido peracético, hipoclorito de sódio e quaternário de amônio utilizados neste estudo

Ácido peracético	pH	Hipoclorito de sódio	pH	Quaternário de amônio	pH
0,1% (150ppm)	3,5	0,05% (20ppm)	6,0	0,1% (200ppm)	5,5
0,2% (300ppm)	3,5	0,1% (40ppm)	6,0	0,2% (400ppm)	5,5
0,3% (450ppm)	3,0	0,3% (120ppm)	6,0	0,3% (600ppm)	6,0
0,5% (750ppm)	3,0	0,5% (200ppm)	6,5	1% (2000ppm)	8,0
1,0% (1500ppm)*	3,0	1% (400ppm)	6,5	2% (4000ppm)*	9,0
-	-	2% (800ppm)*	7,0	-	-

*Concentrações de uso recomendadas pelo fabricante

As concentrações são apresentadas em porcentagens e seu equivalente em ppm encontra-se entre parêntesis

RESULTADOS

Ácido Peracético

Na concentração de uso indicada pelo fabricante (1% ou 1500 ppm) e na metade dessa concentração (0,5% ou 750 ppm), todos os micro-organismos demonstraram sensibilidade nos tempos avaliados. *S. Bredeney* foi sensível a esse composto também nas concentrações de 0,3% (450 ppm) e 0,2% (300 ppm) o que não ocorreu com as cepas de *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*. Na menor concentração testada (0,1% ou 150 ppm), *S. Bredeney* apresentou crescimento apenas até 5 minutos de exposição, enquanto que as demais cepas demonstraram crescimento em todos os tempos avaliados, sendo consideradas resistentes.

Quaternário de amônio

Na concentração indicada pelo fabricante (2% ou 4000 ppm), as três cepas de *Salmonella* foram

sensíveis, bem como com a metade dessa concentração (1% ou 2000 ppm). Nas concentrações de 0,1% (200 ppm), 0,2% (400 ppm) e 0,3% (600 ppm), os três micro-organismos foram resistentes, sobrevivendo ao longo de 20 minutos de exposição.

Hipoclorito de sódio

Na concentração de 2% (800 ppm), recomendada pelo fabricante, todas as cepas de *Salmonella* foram sensíveis ao hipoclorito de sódio. Já na metade da concentração indicada pelo fabricante (1% ou 400 ppm), SE86 demonstrou resistência nos 5 e 10 primeiros minutos, o que não ocorreu com as outras cepas. Na concentração de 0,5% (200 ppm), pode-se observar que todas as cepas apresentaram resistência por algum tempo, porém SE86 permaneceu viável por até 15 minutos de contato. Os demais micro-organismos sobreviveram apenas nos primeiros 5 minutos.

Tabela 2. Suscetibilidade dos três sorovares de *Salmonella* frente aos componentes Ácido Peracético, Hipoclorito de Sódio e Quaternário de Amônio

Concentração dos Compostos	<i>S. Enteritidis</i> (SE86)	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Bredeney</i>
Ácido Peracético			
1% (1500 ppm)	S	S	S
0,5% (750 ppm)	S	S	S
0,3% (450 ppm)	R	R	S
0,2% (300 ppm)	R	R	S
0,1% (150 ppm)	R	R	R
Hipoclorito de sódio			
2% (800 ppm)	S	S	S
1% (400 ppm)	R	S	S
0,5% (200 ppm)	R	R	R
0,3% (120 ppm)	R	R	R
0,1% (40 ppm)	R	R	R
0,05% (20 ppm)	R	R	R
Quaternário de amônio			
2% (4000 ppm)	S	S	S
1% (2000 ppm)	S	S	S
0,3% (600 ppm)	R	R	R
0,2% (400 ppm)	R	R	R
0,1%(200 ppm)	R	R	R

R: resistente; S: sensível

As concentrações são apresentadas em porcentagens e seu equivalente em ppm encontra-se entre parêntesis

DISCUSSÃO

Diferentes tipos de micro-organismos apresentam respostas variadas a ação de antissépticos e desinfetantes¹⁰. Patógenos alimentares ao sobreviver aos processos de desinfecção utilizados em uma indústria de alimentos ou serviço de alimentação podem ocasionar diversos problemas de saúde pública.

O PAA tem sido amplamente utilizado como um eficiente desinfetante hospitalar e no tratamento da água¹³, sendo que, em 1993, a Portaria N°122 da ANVISA¹⁸ autorizou a utilização desse desinfetante também nas indústrias de alimentos. Esse composto, além de ser utilizado como desinfetante para superfícies que entram em contato com alimentos, também pode ser utilizado na desinfecção do próprio alimento¹⁹. Os resultados do presente trabalho demonstraram que, na concentração recomendada pelo fabricante e na metade dessa concentração, o PAA foi eficaz na inativação das três cepas de *Salmonella* avaliadas (Tabela 2). No entanto, as concentrações de 0,3%, 0,2% e 0,1% indicaram maior resistência dos micro-organismos *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*. Kich et al²⁰ obtiveram 4 log de redução de *S. Typhimurium* isoladas de suínos do RS, após 15 minutos de contato com o ácido peracético (composto ativo: 15%, diluição: 1:3000). Kunigk e Almeida¹⁴ avaliaram a ação do ácido peracético sobre as bactérias *E. coli* e *S. aureus* em suspensão. Uma solução de 60 ppm de ácido peracético foi capaz de inativar 8 log de *E. coli*, em 3,1 minutos, e 40 ppm reduziram a suspensão bacteriana de *S. aureus* em 8 log, após 4 minutos de contato.

Segundo Andrade e Macedo²¹, as concentrações de PAA utilizadas nas indústrias de alimentos variam de 300 a 700 ppm. Nas concentrações de 300 e 450 ppm, o presente estudo demonstrou que apenas *S. Bredeney* foi sensível a esse desinfetante. Contudo, na concentração de 750 ppm, todos os micro-organismos avaliados foram inativados.

A Resolução da Diretoria Colegiada RDC N° 14, de 28 de fevereiro de 2007, da ANVISA²², autoriza os QUAT para o uso nas indústrias de alimentos. Segundo Andrade e Macedo²¹ as concentrações comumente utilizadas nessas indústrias variam de 300 a 400 ppm. Entretanto, em ambientes hospitalares, a concentração de uso dos QUAT pode ser de 2000 ppm²³. No presente estudo, na concentração indicada pelo fabricante (2% ou 4000 ppm) e na metade dessa concentração, todos os sorovares foram sensíveis. Borowsky et al²⁴ avaliaram a sensibilidade e resistência de 96 cepas de *S. Typhimurium* isoladas de

suínos no RS, frente ao quaternário de amônio. O teste foi realizado em suspensão e as concentrações utilizadas foram de 0,3 e 0,6 mg/L (15 g/100 mL de composto ativo). No trabalho destes autores foi demonstrado que os isolados de *S. Typhimurium* apresentaram resistência nas duas concentrações, em cinco minutos de exposição. Em 15 minutos de contato, nenhuma amostra foi resistente. É importante salientar que tais resultados foram obtidos sem a adição de matéria orgânica aos tubos avaliados. Por outro lado, Kich et al²⁰ avaliaram a atividade do QUAT frente a amostras de *S. Typhimurium* isoladas de suínos, na presença e ausência de matéria orgânica. Os autores concluíram que na presença de matéria orgânica o QUAT teve prejuízo de sua atividade, uma vez que, na ausência de matéria orgânica esse composto demonstrou ser capaz de inativar *Salmonella*.

O *Food and Drug Administration*¹⁶ recomenda o uso do hipoclorito de sódio como agente desinfetante para superfícies que entram em contato com alimentos em concentrações acima de 200 ppm. Concentrações entre 100 e 200 ppm têm sido recomendadas para desinfecção de utensílios e equipamentos no Brasil²¹ e outros países. No presente estudo, os resultados indicaram que o hipoclorito de sódio foi capaz de inativar as três cepas de *Salmonella* quando concentrações bem maiores foram utilizadas. Entretanto, na concentração de 400 ppm, SE86 foi a única cepa a apresentar resistência. Na concentração de 200 ppm, todos os micro-organismos demonstraram resistência por 5 minutos, sendo que SE86 sobreviveu por até 15 minutos de exposição. A ampla utilização do hipoclorito de sódio pode ser atribuída, dentre várias razões, devido ao seu baixo custo e amplo espectro de ação. Segundo a Portaria 78/2009, que entrou em vigor recentemente no Estado do Rio Grande do Sul²⁵, para desinfecção de alimentos hortifrutigranjeiros, deve-se utilizar solução clorada entre 100 e 250 ppm, por 15 minutos. Concentrações de aproximadamente 200 ppm, por 15 minutos, têm sido recomendadas e utilizadas na desinfecção de panos de limpeza²⁵, equipamentos e utensílios, desde que enxaguadas com água potável, após aplicação do desinfetante. Sendo assim, patógenos alimentares, como SE86, resistentes a tais processos de desinfecção assumem grande importância. Além da maior resistência ao hipoclorito de sódio demonstrado pela SE86 neste trabalho, demais estudos têm ressaltado características importantes dessa cepa. Por exemplo, Malheiros et al¹⁵ demonstraram que SE86 apresentou maior resistência térmica e maior capacidade de adaptação ácida

após exposição a pH subletais. Malheiros et al²⁶ estudaram o crescimento dessa mesma cepa em salada de batata com maionese caseira, alimento considerado como o principal veículo de salmoneloses no RS, e comprovaram crescimento mais rápido nas seis primeiras horas de cultivo do que cepas de *S. Bredeney* e *S. Typhimurium*. Tais características podem estar contribuindo com a permanência de *S. Enteritidis* como patógeno causador de diversos surtos alimentares no RS.

CONCLUSÃO

Os desinfetantes PAA, QUAT e hipoclorito de sódio, nas concentrações indicadas pelos fabricantes, foram capazes de inativar as três cepas de *Salmonella*, embora concentrações menores tenham possibilitado a sobrevivência dos micro-organismos testados. *S. Enteritidis* (SE86) apresentou maior resistência ao hipoclorito de sódio que as demais cepas avaliadas. Uma vez que esse desinfetante tem sido amplamente utilizado no RS, essa resistência pode estar associada ao frequente envolvimento de *S. Enteritidis* em surtos de salmoneloses ocorridos neste Estado.

REFERÊNCIAS

1. Lopalco PL, Germinario C, Di Martino V, Frisoli L, Pagano A, Quarto M et al. Epidemiologic study and cost analysis of an *Salmonella* Enteritidis epidemic. *Ann Ig*. 2000; 12(4): 279-85.
2. Namata H, Méroc E, Aerts M, Faes C, Abrahantes JC, Imberechts H et al. *Salmonella* in Belgian laying hens: An identification of risk factors. *Prev Vet Med*. 2008; 83(3-4): 323-36.
3. Alcocer I, Oliveira KMP, Vidotto MC, Oliveira TCRM. Discrimination of *Salmonella* serovars isolated from chicken meat by REP and ERIC-PCR and phagotyping of Enteritidis sorovar. *Cienc Tecnol Aliment*. 2006; 26 (2): 1-16.
4. Peresi JTM, Almeida IAZC, Lima SL, Marques DF, Rodrigues ECA, Fernandes SA et al. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. *Rev Saúde Pública*. 1998; 32(5): 1-13.
5. Tavechio AT, Ghilardi AC, Peresi JT, Fuzihara TO, Yonamine EK, Jakabi M et al. *Salmonella* serotypes isolated from nonhuman source in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. *J Food Protec*. 2002; 65(6): 1041-4.
6. Geimba MP, Tondo EC, de Oliveira FA, Canal CW, Brandelli A. Serological characterization and prevalence of *spvR* genes in *Salmonella* isolated from foods involved in outbreaks in Brazil. *J Food Protec*. 2004; 67 (6): 1229-33.
7. Oliveira FA, Frazzon APG, Brandelli A, Tondo EC. Use of PCR-ribotyping, RAPD, and antimicrobial resistance for typing of *Salmonella* Enteritidis involved in food-borne outbreaks in Southern Brazil. *J Infect Developing Countries*. 2007; 1 (2):170-6.
8. Oliveira FA, Geimba MP, Pasqualotto AP, Brandelli A, Pasquali G, Silva WP et al. Clonal relationship among *Salmonella enterica* serovar Enteritidis involved in foodborne outbreaks in southern Brazil. *Food Control*. 2009; 20(6): 606-10.
9. Paula CMD. Avaliação da sorologia e susceptibilidade a antimicrobianos de linhagens de *Salmonella* sp envolvidas em surtos alimentares ocorridos no Rio Grande do Sul entre 2003 e 2006 [monografia]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006.
10. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinic Microbiol Rev*. 1999; 12(1):147-79.
11. Rossoni EMM, Gaylarde CC. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. *Int J Food Microbiol*. 2000; 61(1): 81-5.
12. Schmidt RH. Basic elements of equipment cleaning and sanitizing in food processing and handling operations. Institute of food and agricultural science. University of Florida, 2003. [acesso em 04 dez 2006.]. Disponível em: [http://edis.ifas.ufl.edu.].
13. Souza JB, Daniel LA. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. *Eng Sanit Ambient*. 2005; 10(2): 111-7.
14. Kunigh L, Almeida MCB. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. *Braz J Microbiol*. 2001; 32 (1): 38-41.
15. Malheiros PS, Brandelli A, Noreña CPZ, Tondo EC. Acid and thermal resistance of a *Salmonella* Enteritidis strain involved in several foodborne outbreaks. *J Food Safety*. 2009; 29 (2): 302-17.
16. Food and Drug Administration. Sanitization of equipment and utensils. [acesso 04 dez 2006]. Disponível em: [http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fc01-4.html.].
17. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 101, de 17 de agosto de 1993. Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 17 ago. 1993, Seção I, p. 11937-45.
18. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 122, de 29 de novembro de 1993. Inclui na Portaria nº 15, de 23/08/88, sub anexo 1, alínea I, o princípio ativo ácido peracético, para uso das formulações de desinfetantes/esterilizantes. [acesso 04 abr 2008]. Disponível em: http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=5334&word=].
19. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação de Boas Práticas para Serviços de Alimentação: Resolução - RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. [acesso jul 06]. Disponível em: [http://e-legis.bvs.br/leisref/public].
20. Kich JD, Borowsky LM, Silva VSS, Ramenzoni M, Triques N, Kooler FL et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos. *Acta Sci Vet*. 2004; 32 (1): 33-9.

21. Andrade NJ, Macedo JAB. Agentes químicos para higienização. In: Higienização na indústria de alimentos. São Paulo: Varela; 53-137, 1996.
22. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC nº 50/06. Diário Oficial [da] União; Brasília, DF, 05 mar. 2007.
23. Penna TCV, Mazzola PG, Martins AMS. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection. *Infect Dis*. 2001; 1 (16): 1471-9.
24. Borowsky LM, Bessa MC, Cardoso MI, Avancini CAM. Sensitivity and resistance of samples of *Salmonella* Typhimurium isolated in slaughter swines in the state Rio Grande do Sul/Brazil, front to disinfectants quaternary ammonium and iodophor. *Ciênc Rur*. 2006; 36 (5): 1479.
25. Brasil. Secretaria Estadual de Saúde. Portaria nº 78, de 30 janeiro de 2009. Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e outras Providências. Diário Oficial [do] Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 30 jan. 2009. p. 35-40.
26. Malheiros PS, Paula CMD, Tondo EC. Cinética de crescimento de *Salmonella* Enteritidis envolvida em surtos alimentares no RS: uma comparação com linhagens de outros sorovares. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007; 27(4): 751-5.