

## **Salmonella Enteritidis formadoras de biofilmes são multirresistentes a antimicrobianos**

Biofilm Former *Salmonella* Enteritidis are Multiresistant to Antibiotics

**Carla Ferreira da Silva<sup>1</sup>, Sara Souza Gehlen<sup>2</sup>, Bruna Webber<sup>1</sup>, Luísa Neukamp Diedrich<sup>1</sup>, Fernando Pilotto<sup>1</sup>,  
Luciana Ruschel dos Santos<sup>1</sup>, Eduardo César Tondo<sup>3</sup>, Vladimir Pinheiro do Nascimento<sup>2</sup> & Laura Beatriz Rodrigues<sup>1</sup>**

### ABSTRACT

**Background:** The *Salmonella* Enteritidis is one of the most isolated pathogens in outbreaks of foodborne illness, which can occur due to various factors such as cooking temperature, inadequate storage and cross-contamination. The choice of the appropriate disinfectant in food industries is essential to prevent the spread of contamination and control of biofilms on surfaces. It is also extremely important the concern with resistance to antimicrobials used both as growth promoters and in human and animal treatments, which may generate a selective pressure favoring the emergence of resistant bacteria.

**Materials, Methods & Results:** Twenty samples of *Salmonella* Enteritidis were tested, 10 from outbreaks of foodborne diseases and 10 of poultry origin, as for the formation of biofilms, antibiotic resistance and sanitizers. The samples were stored frozen in BHI with 20% glycerol. For reactivation were incubated in BHI broth, plated on XLD agar and subsequently performed biochemical tests to check purity. Firstly were evaluated for biofilm formation on polystyrene at temperature of  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . We tested the sanitizing resistance to biguanide concentrations 0.6%, 1.0% and 1.5%, peracetic acid at concentrations 0.1%, 0.5% and 1.0%, and quaternary ammonia at concentrations of 0.3%, 1.0% and 2.0%. For tests of antimicrobial resistance the cultures were evaluated front 10 µg ampicillin, 30 µg cephalexin, 30 µg chloramphenicol, 5 µg enrofloxacin, 15 µg erythromycin, 30 µg neomycin, 25 µg sulphazotrim, 300 µg sulfonamides. According to the results, 25% of samples were strongly biofilm formers, 35% moderately formers, 35% weakly formers and 10% not biofilm formers. In sanitizers, quaternary ammonia and peracetic acid were effective at all concentrations and at all times, but tests with biguanide resulted in resistance in the time of 1 min at concentrations 0.6%, 1.0% and 1.5%, at time 5 min at concentrations of 1.0% and 1.5% and at time 10 min at concentrations of 0.6% and 1.0%. As for antimicrobial susceptibility testing, 10 samples of *S. Enteritidis* presented pattern of multidrug resistance to the antibiotics tested. In relation to the active principles, 25% of *S. Enteritidis* were resistant to ampicillin, 5% to cephalexin, 55% to enrofloxacin, 90% to erythromycin, 80% to neomycin, 5% to sulphazotrim, 70% to sulfonamides. There was 100% sensitivity to chloramphenicol.

**Discussion:** All *S. Enteritidis* from outbreaks of foodborne diseases and 80% of *S. Enteritidis* from poultry products produced biofilm. Regarding *S. Enteritidis* outbreaks of foodborne illness, 30% were strongly biofilm formers, 50% moderately former and 20% poorly formers. Those isolated from poultry products were 10% strongly formers, 10% moderately formers and 60% poorly formers. Besides the formation of biofilms, 50% of *S. Enteritidis* were multiresistant to antimicrobials been tested, and of these, 35% corresponded to *S. Enteritidis* isolates from outbreaks of foodborne illness and only 15% were of poultry origin. Still, 50% of *Salmonella* Enteritidis were also resistant to biguanide, of which 30% were *S. Enteritidis* isolates from outbreaks of foodborne illness and 20% isolated from poultry products. These results denotes great relevance due to the possibility of permanence of these microorganisms in food manipulation environments in the form of biofilms and, in the case of transmission to humans, present more difficulty in treatment due to the multidrug resistance.

**Keywords:** *Salmonella* Enteritidis, biofilms, multidrug resistance, antimicrobials, sanitizers.

**Descritores:** *Salmonella* Enteritidis, biofilmes, multirresistência, antimicrobianos, sanitizantes.

## INTRODUÇÃO

*Salmonella* Enteritidis é frequentemente relacionada a surtos de origem alimentar associados ao consumo de carne de aves e ovos e prejuízos econômicos em vários países [17,26,27]. No Brasil, entre 2000 e 2013, *Salmonella* spp. foi o agente etiológico de 1522 surtos de DTA [1] e, nos Estados Unidos, juntamente com *Campylobacter*, originaram mais de 2,5 milhões de casos com milhares de internações e centenas de mortes [13,19].

A formação de biofilmes por *Salmonella* em superfícies de contato com alimentos contribui para infecções alimentares e a contaminação dos alimentos pode ocorrer pelo controle inadequado das temperaturas de armazenagem e distribuição, falhas de boas práticas na manipulação ou contaminação cruzada, relacionada com a capacidade de adesão destas bactérias [5,20]. A escolha do sanitizante apropriado nas indústrias de alimentos é primordial para evitar a disseminação desta contaminação, sendo utilizado para reduzir o número de microrganismos alvo em superfícies de contato com alimentos [7].

Na produção de frangos de corte são utilizados alguns antimicrobianos como promotores de crescimento adicionados à ração em doses contínuas e subterapêuticas, gerando uma pressão seletiva e bactérias resistentes [15,18]. A resistência antimicrobiana é o principal efeito colateral desta prática, selecionando bactérias resistentes, modificando a estrutura de comunidades bacterianas e induzindo uma evolução acelerada com consequências imprevisíveis para a saúde humana [8].

Neste trabalho, foram testadas 20 amostras de *S. Enteritidis* (10 oriundas de infecções alimentares e 10 de origem avícola) quanto à formação de biofilmes, resistência a sanitizantes e a antimicrobianos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os testes de avaliação da formação de biofilmes, sensibilidade aos sanitizantes e aos antimicrobianos foram realizados no Laboratório de Bacteriologia e Micologia Veterinária do Hospital Veterinário da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (FAMV/UPF).

### *Amostras de Salmonella* Enteritidis

Foram analisadas 20 amostras de *Salmonella* Enteritidis previamente isoladas entre 2006 e 2009,

sendo 10 provenientes de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), originadas de alimentos envolvidos em surtos e coprocultura de casos clínicos, e outras 10 amostras de origem avícola não envolvidas em surtos, originadas de amostras ambientais (suabes de arrasto) e cortes de aves diretamente do abatedouro. O controle positivo utilizado foi *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076.

As amostras estavam estocadas em caldo Brain-Heart Infusion (BHI)<sup>1</sup> acrescido com 20% de glicerol<sup>2</sup> e congeladas a -20°C, e foram reativadas utilizando caldo BHI<sup>1</sup>, incubado a 36 ± 1°C por 18 a 24 h, posteriormente semeadas em Ágar Xilose-Lisina Desoxicolato (XLD)<sup>1</sup> e incubadas a 36 ± 1°C. Depois de 24 h foi observado o padrão de colônias para avaliar se eram compatíveis com *Salmonella* spp., confirmadas com testes bioquímicos.

### *Formação de biofilmes*

A habilidade das amostras formarem biofilme foi avaliada conforme técnica descrita anteriormente [23]. Para tanto, uma alçada das culturas foram transferidas para caldo TSB sem glicose<sup>3</sup> para incubação a 36 ± 1°C por 24 h. Em seguida, alíquotas das culturas foram adicionadas em caldo TSB sem glicose<sup>3</sup> não inoculados até atingir a escala 1 de MacFarland<sup>4</sup>. Posteriormente, 200 µL de cada suspensão bacteriana foram inoculados, em triplicata, em poços de placas de microtitulação de poliestireno de 96 cavidades estéreis com fundo plano<sup>5</sup>. Os controles negativos foram poços com caldos TSB sem glicose<sup>3</sup>, em triplicata, não inoculados. Foram repetidos os mesmos procedimentos em placas independentes que foram incubadas por 24 h. Após a incubação, a suspensão bacteriana foi aspirada de cada poço, lavada 3 vezes com 250 µL de solução de cloreto de sódio a 0,9% estéril<sup>6</sup>, secando-se levemente a placa. Em seguida, as células bacterianas foram fixadas com 200 µL de metanol p.a.<sup>2</sup> por 15 min. Após, o metanol foi removido e as placas secas em temperatura ambiente, depois coradas com 200 µL de cristal violeta de Hucker 2%<sup>2</sup> durante cinco min. Após serem coradas, as microplacas<sup>5</sup> foram lavadas em água corrente e secas a temperatura ambiente. Após foi realizada a leitura da absorbância em leitor de ELISA<sup>7</sup> a 550 nm.

O valor da densidade óptica de cada amostra (Doa) foi obtido pela média aritmética da absorbância dos três poços e este valor foi comparado com a média da absorbância dos controles negativos (Docn). Para

determinar o grau de formação de biofilme foi utilizada a seguinte classificação: não formadora de biofilme ( $Doa \leq Do_{cn}$ ), fracamente formadora de biofilme ( $Do_{cn} < Doa \leq 2 \cdot Do_{cn}$ ), moderadamente formadora de biofilme ( $2 \cdot Do_{cn} < Doa \leq 4 \cdot Do_{cn}$ ) e fortemente formadora de biofilme ( $4 \cdot Do_{cn} < Doa$ ).

#### Resistência aos sanitizantes

Foi avaliada a resistência das 20 *S. Enteritidis* frente aos sanitizantes amônia quaternária<sup>8</sup>, ácido peracético<sup>8</sup> e biguanida<sup>8</sup>. Após a obtenção de colônias testes puras, foram incubadas individualmente em caldo BHI<sup>1</sup> a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 h para iniciar os testes dos sanitizantes.

O cloridrato de polihexametileno de biguanida<sup>8</sup> foi testado nas concentrações 0,6%, 1,0% e 1,5%, o quaternário de amônio<sup>8</sup> nas concentrações 0,3%, 1,0% e 2,0% e o ácido peracético<sup>8</sup> nas concentrações 0,1%, 0,5% e 1,0%. Para obtenção da matéria orgânica a ser utilizada como interferente foi preparado um caldo de carne de frango estéril, autoclavado a  $121^\circ\text{C}$  por 45 min, obtendo-se 430 mg de matéria orgânica por mL do caldo pronto.

Foram feitas diluições decimais de cada cultura teste até  $10^{-8}$  em 9 mL de água peptonada 0,1%<sup>1</sup>, e realizada inoculação em superfície de ágar PCA<sup>1</sup> de 100  $\mu\text{L}$  das diluições  $10^{-5}$  a  $10^{-8}$ , homogeneizadas com alça de Drigalsky, para quantificação do inóculo, incubados por 48 h a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  para realização da contagem do número de colônias.

Em um tubo com 9 mL do desinfetante na concentração a ser testada, foi adicionado 1 mL de matéria orgânica na diluição de  $10^{-3}$ , com concentração final de 0,43 mg/mL, acrescentado 100  $\mu\text{L}$  da suspensão bacteriana na diluição  $10^{-2}$ , realizada homogeneização em vórtex<sup>9</sup> e cronometrados os tempos de 1, 5, 10 e 15 min exatamente a partir do momento da inoculação. Em cada um dos tempos determinados foi inoculado 10  $\mu\text{L}$  da solução teste com a amostra em um tubo de 5 mL de DE neutralizing<sup>3</sup> + Tween 80<sup>2</sup>. As amostras foram incubadas por 96 h a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Foram considerados positivos os tubos com turvação, formação de película na superfície ou de precipitado no fundo.

#### Resistência aos antimicrobianos

As culturas bacterianas foram semeadas em Agar Muller Hinton<sup>10</sup>, incubadas por 24 h e testadas pela técnica de disco-difusão [6] frente aos seguintes prin-

cípios ativos: Ampicilina 10  $\mu\text{g}^{11}$ ; Cefalexina 30  $\mu\text{g}^{12}$ ; Cloranfenicol 30  $\mu\text{g}^{12}$ , Enrofloxacin 5  $\mu\text{g}^{12}$ , Eritromicina 15  $\mu\text{g}^{13}$ , Neomicina 30  $\mu\text{g}^{12}$ , Sulfazotrim 25  $\mu\text{g}^{11}$  e Sulfonamidas 300  $\mu\text{g}^{12}$ .

Para tanto, as *S. Enteritidis* em colônias puras foram incubadas em caldo BHI1 a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 16 a 18 h. Uma suspensão equivalente a escala 0,5 de MacFarland<sup>4</sup> foi obtida por diluição em caldo BHI<sup>1</sup> e utilizada para inoculação das bactérias-teste em Agar Mueller-Hinton<sup>10</sup>. Após incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 16 a 18 h foi realizada a leitura e interpretação dos halos de inibição conforme tabela específica. Utilizou-se o critério para multirresistência aos fármacos do *National Antimicrobial Resistance Monitoring System* [19] que cita multirresistência como a resistência a três ou mais classes de antimicrobianos e também por fenótipos específicos.

## RESULTADOS

Nos testes para verificação da formação de biofilmes, 25% das amostras foram fortemente formadoras de biofilme, 35% moderadamente formadoras ou fracamente formadoras e 10% não formadoras de biofilme (Tabela 1).

Nos resultados referentes aos testes com sanitizantes, a amônia quaternária e o ácido peracético foram eficientes em todas as concentrações e em todos os tempos testados. Entretanto, os testes com a biguanida resultaram em resistência no tempo de 1 min nas concentrações 0,6%, 1,0% e 1,5%, no tempo de 5 min nas concentrações 1,0% e 1,5%, e no tempo de 10 min nas concentrações 0,6% e 1,0%. As amostras de *S. Enteritidis* que apresentaram resistência à biguanida estão descritas na Tabela 1.

Quanto aos testes de sensibilidade a antimicrobianos, 10 amostras de *S. Enteritidis* apresentaram padrão de multirresistência aos antibacterianos testados, conforme Tabela 2.

Em relação aos princípios ativos, as 20 *S. Enteritidis* estudadas foram 90% resistentes à eritromicina, 80% à neomicina, 70% às sulfonamidas, 55% à enrofloxacin, 25% à ampicilina, 5% à cefalexina e 5% à sulfazotrim. Houve 100% de sensibilidade ao cloranfenicol (Figura 1).

A comparação da resistência aos antimicrobianos pelas amostras isoladas de surtos e de origem avícola está demonstrada na Tabela 3.

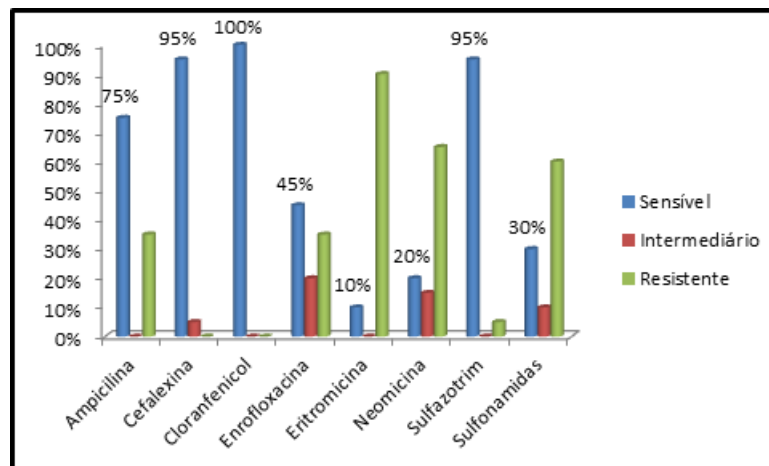


Figura 1. Perfil da sensibilidade aos antimicrobianos das 20 cepas de *Salmonella* Enteritidis isoladas de surtos de DTA e de origem avícola.

Tabela 1. Formação de biofilmes, perfil de resistência a antimicrobianos e resistência a biguanida de *Salmonella* Enteritidis isoladas de surtos de doenças transmitidas por alimentos e de origem avícola.

Amostra	Origem	Formação de biofilme	Perfil de resistência antimicrobiana	Resistência à biguanida
SE09	Surto DTA	Moderada	P8	R
SE10	Surto DTA	Moderada	P1*	R
SE24	Surto DTA	Forte	P1*	R
SE29	Surto DTA	Moderada	P2*	R
SE36	Surto DTA	Forte	P2*	R
SE41	Surto DTA	Forte	P7	R
SE59	Surto DTA	Moderada	P7	S
SE65	Surto DTA	Moderada	P3*	S
SE72	Surto DTA	Fraca	P1*	S
SE75	Surto DTA	Fraca	P4*	S
SE82	Avícola	Não formadora	P6	S
SE84	Avícola	Fraca	P8	S
SE85	Avícola	Fraca	P6	S
SE88	Avícola	Fraca	P3*	S
SE90	Avícola	Moderada	P6	S
SE106	Avícola	Fraca	P4*	S
SE111	Avícola	Forte	P9	R
SE114	Avícola	Fraca	P5*	R
SE163	Avícola	Não formadora	P10	R
SE170	Avícola	Fraca	P7	R

\**Salmonella* Enteritidis multirresistente

**Tabela 2.** Distribuição do padrão de resistência a antimicrobianos de 20 isolados de *Salmonella* Enteritidis oriundos de surtos de DTA e de origem avícola.

Padrão de resistência aos antimicrobianos	Número de amostras	Perfil de resistência
Amp, Enro, Eri, Neo, SFN	3	1
Enro, Eri, Neo, SFN	2	2
Amp, Eri, Neo, SFN	2	3
Eri, Neo, SFN	2	4
Enro, Eri, SZT	1	5
Eri, Neo	3	6
Eri, SFN	3	7
Eri	2	8
Enro	1	9
Neo	1	10

Amp = Ampicilina 10 µg, Cef = Cefalexina 30 µg, Clo = Cloranfenicol 30 µg, Enro = Enrofloxacina 5 µg, Eri = Eritromicina 15 µg, Neo = Neomicina 30 µg, SZT = Sulfazotrim 25 µg, SFN = Sulfonamidas 300 µg.

**Tabela 3.** Comparação da resistência aos antimicrobianos das *Salmonella* Enteritidis isoladas de surtos de doenças transmitidas por alimentos e de origem avícola.

Princípio ativo	Total	Isolados de surto		Isolados de origem avícola	
		N	%	N	%
Ampicilina 10 µg	20	10	40%	10	0%
Cefalexina 30 µg	20	10	0%	10	0%
Cloranfenicol 30 µg	20	10	0%	10	0%
Enrofloxacina 5 µg	20	10	50%	10	20%
Eritromicina 15 µg	20	10	100%	10	80%
Neomicina 30 µg	20	10	70%	10	60%
Sulfazotrim 25 µg	20	10	0%	10	10%
Sulfonamida 300 µg	20	10	90%	10	30%

### DISCUSSÃO

Os biofilmes em indústrias alimentícias são importantes quanto à sua formação em alimentos, utensílios e superfícies, à sua dificuldade de remoção e, ainda, por seu potencial como fonte crônica de contaminação microbiana, podendo transmitir doenças, além de aumentar a resistência à limpeza e sanitização [9,24,25].

Rodrigues *et al.* [23] avaliaram a formação de biofilme por *Salmonella* Heidelberg provenientes de carcaças de frango e suabes de cloaca, em poliestireno, cultivados em caldo TSB sem glicose e suplementados com glicose até 4%. Todas *S. Heidelberg* testadas

com TSB sem glicose formaram biofilme, obtendo-se amostras fortemente formadoras de biofilme, resultado compatível com o obtido pelas *S. Enteritidis* avaliadas neste experimento.

A sensibilidade das bactérias aos sanitizantes de uso comum em indústrias de alimentos, quando estas compõem um biofilme, muitas vezes difere da encontrada em testes com células planctônicas. A formação de biofilmes por *Salmonella* em aço inoxidável, plástico e cimento foi avaliada e a ação de sanitizantes frente a estes biofilmes e células planctônicas, havendo grande diferença entre os resultados obtidos, com o biofilme apresentando uma resistência muito maior [10].

As *S. Enteritidis* analisadas neste estudo demonstraram resistência somente à biguanida. As condições que podem levar a resistência incluem a aplicação em concentrações sub-letais e também neutralização do composto durante a utilização [7]. A resistência combinada a desinfetantes e antimicrobianos, carregada por um mesmo grupo de genes, seria esperada [12]. As salmonelas podem apresentar grande resistência frente à amônia quaternária, amplamente utilizada na avicultura [14], mas, em nosso estudo, a amônia quaternária foi eficiente nas amostras testadas.

Do ponto de vista econômico, as infecções causadas por microrganismos multirresistentes são preocupação constante devido ao manejo terapêutico representar um aumento substancial para os sistemas de saúde. Sabe-se que as bactérias multirresistentes causam maiores danos aos pacientes do que cepas susceptíveis da mesma espécie [2].

Uma pesquisa do perfil de susceptibilidade de 1764 *Salmonella enterica* isoladas de pacientes com diarreia, coletadas em cinco cidades da China, detectou alta resistência a múltiplas drogas, e que apenas 9,97% dos isolados foram sensíveis a todos os agentes testados [11].

Na União Europeia, a ocorrência de resistência por *Salmonella* em casos isolados de salmonelose em humanos foi alta para ampicilina e sulfonamidas com altos níveis de resistência a múltiplas drogas observada em alguns países [8]. Nas *S. Enteritidis* avaliadas em nosso estudo, a resistência frente às sulfonamidas também foi alta, sendo maior nos isolados de doenças transmitidas por alimentos, já a resistência à ampicilina foi baixa, porém apenas uma amostra de *S. Enteritidis* de origem avícola foi resistente à ampicilina, e as demais resistentes foram isoladas de surtos, concordando com o estudo da EFSA.

Um estudo com 100 amostras de *Salmonella* realizado em Cuba encontrou 22,7% dos isolados resistentes à ampicilina [21]. Amostras de *Salmonella* isoladas na China também se mostraram altamente resistentes a este antimicrobiano [16]. No presente estudo, a resistência à ampicilina foi alta nas amostras isoladas de surto (40%), entretanto, todas as amostras isoladas de origem avícola foram sensíveis a este antimicrobiano.

Uma pesquisa realizada com *S. Enteritidis* isoladas de carcaças de frango no período de maio de 1995 e abril de 1996 no Rio Grande do Sul constatou

que 100% das amostras avaliadas foram resistentes à eritromicina, 3,75% foram resistentes à enrofloxacin, 3,75% foram resistentes à neomicina e 86,25% foram resistentes à sulfonamida [4]. Nas 20 amostras avaliadas em nosso estudo, 100% das isoladas de surtos de doenças transmitidas por alimentos foram resistentes à eritromicina e 80% das isoladas de origem avícola, concordando com a alta resistência obtida por Cardoso *et al.* [4]. Entretanto, a resistência frente à enrofloxacin foi de 50% nas amostras de surtos e 20% nas de origem avícola. Quanto à resistência à neomicina, 70% das amostras de surto e 60% das isoladas de origem avícola foram resistentes a este antimicrobiano. A resistência encontrada para sulfonamidas foi alta, assim como no estudo citado anteriormente [4], onde encontramos 90% das amostras de surtos e 30% das isoladas de origem avícola resistentes a este antimicrobiano.

Este estudo teve 100% das amostras sensíveis ao cloranfenicol, sendo condizente com a Instrução Normativa 9 de 27 de junho de 2003 que proíbe o seu uso, diferente do que foi encontrado em amostras de *Salmonella* isoladas na Colômbia, onde 34% foram resistentes ao cloranfenicol [13]. No Brasil é proibida a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso do cloranfenicol para uso veterinário [3].

Em um trabalho com amostras de *Salmonella* spp. isoladas de carcaças suínas identificou 66,7% de resistência a um ou mais princípios ativos, 33,3% de resistência intermediária e 23,3% de amostras multirresistentes (resistentes a pelo menos três antimicrobianos), sendo 16,7% ao cloranfenicol [22].

Dentre as 20 *S. Enteritidis* estudadas, 10 foram multirresistentes a antimicrobianos e também foram formadoras de biofilmes. Esta resistência é importante, pois, se as bactérias sobreviverem à higienização das indústrias e contaminarem os alimentos, podem ocasionar surtos de infecção de origem alimentar, mas os antimicrobianos utilizados podem não ser eficientes.

## CONCLUSÃO

Estes resultados denotam grande relevância devido à possibilidade da *S. Enteritidis* permanecer em ambientes de manipulação de alimentos na forma de biofilmes e, em caso de transmissão para seres humanos, apresentar maior dificuldade de tratamento devido a multirresistência a antimicrobianos.

SOURCES AND MANUFACTURERS

- <sup>1</sup>HiMedia® Laboratories. Mumbai, Índia.  
<sup>2</sup>Vetec® Química Fina Ltda. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.  
<sup>3</sup>Difco® Microbiologia. Sparks, MD, USA.  
<sup>4</sup>Escala de MacFarland® Nefelobac, Probac do Brasil. São Paulo, SP, Brazil.  
<sup>5</sup>Cral artigos para laboratório Ltda. Cotia, Brazil.  
<sup>6</sup>Synth® Labsynth Produtos para Laboratório Ltda. Diadema, SP, Brazil.  
<sup>7</sup>Rosys Anthos 2010®, Anthos Labtec Instruments. Salzburg, Áustria.  
<sup>8</sup>Kalykim®. Alvorada, RS, Brazil.  
<sup>9</sup>Biomixer® Equipamentos Laboratoriais. Ribeirão Preto, SP, Brazil.  
<sup>10</sup>Oxoid® Microbiology Products. Hampshire, United Kingdom.  
<sup>11</sup>Laborclin® Produtos para Laboratório Ltda. Pinhais, Paraná, PR, Brazil.

<sup>12</sup>BBL™ Sensi-Disc™ Susceptibility Test Discs. Franklin Lakes, NJ, USA.

<sup>13</sup>Cefar® Diagnóstica Ltda, Sensifar e Multifar. São Paulo, SP, Brazil.

**Acknowledgements.** The authors wish to acknowledge the FAPERGS (Edital 001/2013 GR, Project: 1997-2551/13) for the financial support and scholarship for conducting this study, and the scholarship provided by CAPES/PROSUP/UPF.

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

REFERENCES

- Alves R. 2013.** Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em: <[https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CC0QFjAC&url=http%3A%2F%2Fww2.camara.leg.br%2Fatividade-legislativa%2Fcomissoes%2Fcomissoes-permanentes%2Fcmads%2Faudiencias-publicas%2Faudiencia-publica-2013%2Fcrudade-a-que-os-animais-de-producao-sao-expostos-em-abatedouros-municipais%2Fapresentacoes%2Fapresentacao-da-sra-rejane-alves%2Fview&ei=fNO\\_U\\_CAJqbesATMuYLwBw&usq=AFQjCNGn4M1nEY-6xwcIS5G0L\\_uwpQfgvg](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CC0QFjAC&url=http%3A%2F%2Fww2.camara.leg.br%2Fatividade-legislativa%2Fcomissoes%2Fcomissoes-permanentes%2Fcmads%2Faudiencias-publicas%2Faudiencia-publica-2013%2Fcrudade-a-que-os-animais-de-producao-sao-expostos-em-abatedouros-municipais%2Fapresentacoes%2Fapresentacao-da-sra-rejane-alves%2Fview&ei=fNO_U_CAJqbesATMuYLwBw&usq=AFQjCNGn4M1nEY-6xwcIS5G0L_uwpQfgvg)>. Acessado em 05/2014.
- Balsalobre L.C., Droga M. & Matté M.H. 2014.** An overview of antimicrobial resistance and its public health significance. *Brazilian Journal of Microbiology*. 45(1): 1-5.
- Brasil. 2003.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Secretaria de Defesa Agropecuária. Proibição da Comercialização e manipulação de cloranfenicol e nitrofuranos. Instrução Normativa número 9, de 27 de junho de 2003.
- Cardoso M.O., Ribeiro A.R., Santos L.R., Pilotto F., Moraes H.L.S., Salle C.T.P., Rocha S.L.S. & Nascimento V.P. 2006.** Antibiotic resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from broiler carcasses. *Brazilian Journal Microbiology*. 37(3): 368-371.
- Carpentier B. 1997.** Sanitary quality of meat chopping board surfaces: a bibliographical study. *Food Microbiology*. 14(1): 31-37.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second information supplement M100-S22. CLSI: Wayne, PA, USA.
- Davidson P.M. & Harrison M.A. 2002.** Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers, and Other Process Controls. *Food Technology*. 56(11): 69-78.
- European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). 2014.** The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. *EFSA Journal*. 12(3): 3590, 336 pp.
- Jessen B. & Lammert L. 2003.** Biofilm and disinfection in meat processing plants. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 51(4): 265-269.
- Joseph B., Otta S.K. & Karunasagar I. 2001.** Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *International Journal of Food Microbiology*. 64(3): 367-372.
- Ke B., Sun J., He D., Li X., Liang Z. & Ke C. 2014.** Serovar distribution, antimicrobial resistance profiles, and PFGE typing of *Salmonella enterica* strains isolated from 2007-2012 in Guangdong, China. *BMC Infectious Diseases*. 14: 338.
- Kich J.D., Borowsky L.M., Silva V.S., Ramenzoni M., Triques N., Koller F.L. & Cardoso M.R.I. 2004.** Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*. 32(1): 33-39.
- Landínez M.P. 2013.** Ribotificação de sequências intergênicas de isolados de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* provenientes de produtos avícolas do Brasil e da Colômbia. 186 f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Leite C.R.C. 2002.** Desinfecção química aplicada na avicultura: concentrações inibitórias mínimas de desinfetantes derivados da amônia quaternária e hipoclorito de sódio sobre *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. *Acta Scientiae Veterinariae*. 30(1): 74-75.

- 15 Levy D.D., Sharma B. & Cebula T.A. 2004. Single-nucleotide polymorphism mutation spectra and resistance to quinolones in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis with a mutator phenotype. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48(7): 2355-2363.
- 16 Lu Y., Zhao H., Sun J., Liu Y., Zhou X., Beier R.C., Wu G. & Hou X. 2014. Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* serovars Indiana and Enteritidis from chickens in Eastern China. *PLoS ONE*. 9(5).
- 17 Mead G.C. 1989. Hygienic problems and control of process contamination In: Mead G.C. (Ed). *Processing of poultry*. New York: Elsevier, pp.360-368.
- 18 Miriagou V., Carattoli A. & Fanning S. 2006. Antimicrobial resistance islands: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. *Microbes and Infection*. 8(7): 1923-1930.
- 19 National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). 2012. "Strategic Plan 2012-2016". Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM236283.pdf>>. Acessado em 05/2014.
- 20 Parizzi S.Q.F., Andrade N.J., Silva C.A.S, Soares N.F.F. & Silva E.A.M. 2004. Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method. *Brazilian archives of biology and technology*. 47(1): 77-83.
- 21 Peña Y.P., Hernández M.E., Castillo V.L., López N.A., Díaz M.M. & Rodríguez P.S. 2011. Serovariedades y patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en Cuba. *Rev Panam Salud Publica*. 30(6): 561-565.
- 22 Rizzo N.N., Rodrigues L.B., Santos L.R. & Nascimento V.P. 2006. Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* isoladas de carne suína. In: *Resumos da XVI Mostra de Iniciação Científica da Universidade de Passo Fundo* (Passo Fundo, Brasil). 1 CD-ROM.
- 23 Rodrigues L.B., Santos L.R., Rizzo N.N., Tagliari V.Z., Oliveira A.P., Trenhago G., Rodegheri S.C., Taglieti R.M., Dickel E.L. & Nascimento V.P. 2009. Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. *Acta Scientiae Veterinariae*. 37(3): 225-230.
- 24 Steenackers H., Hermans K., Vanderleyden J. & Keersmaecker S.C.J. 2012. *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food Research International*. 45(2): 502-531.
- 25 Stepanovick S., Cirkovic I., Ranin L. & Svabic-Vlahovic M. 2004. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surfasse. *Letters in Applied Microbiology*. 38(5): 428-432.
- 26 Wagner V.R., Silveira J.B. & Tondo E.C. 2013. Salmoneloses in the State of Rio Grande do Sul, southern Brazil, 2002 to 2004. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44(3): 723-729.
- 27 WHO - World Health Organization. Global Salm-Surv (GSS) Country databank. Disponível em: <[http://thor.dfvf.dk/pls/portal/GSS.COUNTRY\\_DATA\\_SET\\_REP.show](http://thor.dfvf.dk/pls/portal/GSS.COUNTRY_DATA_SET_REP.show)>. Acessado em 02/2014.

