

Resistência antimicrobiana e formação de biofilme de *Enterococcus* spp. isolados de queijo coalho

Antimicrobial resistance and biofilm formation of Enterococcus spp. isolated from coalho cheese

Maria Goretti Varejão da **Silva**¹ , Jéssica Martins de **Andrade**² , Fernanda Maria de Lino **Moura**¹ , Anna Karolyne de Araujo **Medeiros**¹ , Geovania de Souza **Cordeiro**¹ , Nataly Sayonara da Silva **Melo**¹ , Maria Betânia Queiroz **Rolim**¹ , Daniel Dias da **Silva**³ , Vilton Edson Figueirôa de **Moura**¹ , Anísio Francisco **Soares**⁴ , Elizabeth Sampaio de **Medeiros**^{1*} 

¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

²Centro Universitário Brasileiro (UNIBRA), Recife-PE, Brasil.

³Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU), Recife-PE, Brasil.

⁴Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife/PE, Brasil.

*Autora para correspondência: elizabeth.medeiros@ufrpe.br

Informações do artigo

Palavras-chave

Adesão bacteriana
Derivados lácteos
Infecção hospitalar
Microrganismos emergentes
Saúde pública

DOI

doi.org/10.26605/medvet-v18n1-5879

Citação

Silva, M. G. V., Andrade, J. M., Moura, F. M. L., Medeiros, A. K. A., Cordeiro, G. S., Melo, N. S. S., Rolim, M. B. Q., Silva, D. D., Moura, V. E. F., Soares, A. F. & Medeiros, E. S. (2024). Resistência antimicrobiana e formação de biofilme de *Enterococcus* spp. isolados de queijo coalho. *Medicina Veterinária*, 18(1), 91-97. <https://doi.org/10.26605/medvet-v18n1-5879>

Recebido: 03 de junho de 2023

Aceito: 14 de janeiro de 2024

Resumo

Objetivou-se, com esse estudo, analisar o perfil de resistência antimicrobiana e a capacidade de formação de biofilme de *Enterococcus* spp. isolados de queijo de coalho. Foram analisadas 36 amostras de queijo de coalho confeccionado com leite pasteurizado, comercializados em hipermercados da cidade do Recife-PE. Após isolamento e identificação por meio da técnica de coloração de Gram, do VITEK2® e testes bioquímicos, observou-se 36 isolados de *Enterococcus* spp., sendo 44,4% (16/36) *Enterococcus faecalis*, 44,4% (16/36) *Enterococcus faecium* 11,2% (4/36) *Enterococcus durans*. Destes, 22,2% (8/36) apresentaram resistência à eritromicina, 25% (9/36) à nitrofurantoína, 22,2% (8/36) à tetraciclina e 2,7% (1/36) à vancomicina. Observou-se também que 22,2% (8/36) foram classificados como moderados formadores de biofilme e 77,8% (28/36) como fracos formadores. A ocorrência de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes a antimicrobianos e formadoras de biofilme nas amostras de queijo de coalho avaliadas podem representar um risco à saúde pública, já que estes microrganismos são considerados emergentes e estão cada vez mais relacionados a casos de infecção hospitalar. Além disso, o monitoramento da resistência a antimicrobianos sintéticos mostra ser importante no controle de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes às drogas disponíveis no mercado, que representam um dos maiores problemas de saúde pública mundial.

Abstract

The aim of this study was to analyze the antimicrobial resistance profile and biofilm forming ability of *Enterococcus* spp. isolated from coalho cheese. Thirty-six samples of coalho cheese made from pasteurized milk sold in hypermarkets in the city of Recife-PE were analyzed. After isolation and identification using the Gram stain technique, use of VITEK2® and biochemical tests, 36 isolates of *Enterococcus* spp. were observed, 44.4% (16/36) of which were *Enterococcus faecalis*, 44.4% (16/36) *Enterococcus faecium* and 11.2% (4/36) *Enterococcus durans*. Of these, 22.2% (8/36) were resistant to erythromycin, 25% (9/36) to nitrofurantoin, 22.2% (8/36) to tetracycline and 2.7% (1/36) to vancomycin. It was also observed that 22.2% (8/36) were classified as moderate biofilm formers and 77.8% (28/36) as weak formers. The presence of antimicrobial-resistant and biofilm-forming strains of *Enterococcus* spp. in the coalho cheese samples evaluated may represent a public health risk, as these microorganisms are considered emerging and are increasingly associated with hospital-acquired infections. In addition, monitoring resistance to synthetic antimicrobials is proving to be important in the control of *Enterococcus* spp. strains resistant to marketed drugs, one of the world's major public health problems.

Keywords: bacterial adhesion; dairy derivatives; hospital infection; emerging microorganisms; public health.

1 | Introdução

O queijo de coalho, típico da região Nordeste do Brasil, produzido principalmente em Pernambuco, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte, é um produto elaborado a partir de leite cru ou pasteurizado, complementado ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, tendo considerável importância na renda dos fornecedores de leite (Nassu et al., 2003; Cavalcante, 2023). Por ser um produto bastante manipulado e muitas vezes elaborado sob condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, não apresenta segurança microbiológica e padronização (Oliveira et al., 2018).

O queijo de coalho possui uma microbiota natural diversificada, com predominância de bactérias do gênero *Enterococcus*, sendo *E. faecalis* e *E. faecium* as espécies de maior ocorrência (Eaton e Gasson, 2001; Santos et al., 2014). Os microrganismos do gênero *Enterococcus* são frequentemente encontrados em leite e derivados, principalmente em queijos. E constituem um complexo grupo de bactérias, que desempenham papel ambíguo em alimentos, enquanto algumas linhagens são utilizadas em queijos e alimentos enlatados, conferindo sabor, odor e textura a esses produtos e também como culturas iniciadoras na indústria de laticínios para a fabricação de iogurtes e leites cultivados, ressaltando-se aqui que são bactérias ácido-lácticas (BAL), outras cepas estão relacionadas com a deterioração de alimentos (Terra et al., 2018).

A contaminação por *Enterococcus* spp. em alguns queijos industrializados, geralmente, resulta de falhas nas Boas Práticas de Fabricação durante a elaboração dos mesmos (Barros et al., 2019). Esse grupo pode contaminar leite e derivados a partir da matéria fecal, pele de animais, água, equipamentos de ordenha e tanques de expansão (Porto et al., 2016).

Embora as bactérias ácido-lácticas contribuam para o desenvolvimento de características sensoriais e para a biopreservação em queijos, a presença de *Enterococcus* spp. em alimentos tem despertado preocupação, pois são patógenos oportunistas que surgiram como uma das principais fontes de infecções nosocomiais, particularmente em pacientes imunocomprometidos (Lossouarn et al., 2019) e, devido a sua elevada resistência a antimicrobianos e fatores de virulência, estes microrganismos passaram a ser considerados

patógenos emergentes, podendo ser ainda mais preocupante quando há formação de biofilme.

Os biofilmes são estruturas complexas de aglomerados microbianos, protegidos por uma camada de exopolissacarídeos (EPS) que impede a penetração dos fármacos, dificultando ainda mais o tratamento das infecções (Costerton et al., 1999; Shirtliff et al., 2002).

O surgimento de resistência aos antimicrobianos por *Enterococcus* e sua difusão em alimentos sugerem uma situação de risco para a saúde pública, e também deve ser considerada uma possível correlação entre cepas presentes nos hospitais com aquelas isoladas de alimentos (Riboldi et al., 2009). Poucos estudos foram realizados analisando a resistência antimicrobiana de *Enterococcus* spp. isolados de alimentos de origem animal (Campos et al., 2013; Costa et al., 2022) e a capacidade destes microrganismos de formarem biofilme (Maia et al., 2019), diante disso, o presente artigo objetivou avaliar o perfil de resistência antimicrobiana e a capacidade de formar biofilmes de *Enterococcus* spp. isolados de queijo de coalho.

2 | Material e Métodos

Foram analisadas 36 amostras de queijo de coalho confeccionado com leite pasteurizado, embaladas a vácuo e comercializadas em oito hipermercados da cidade do Recife-PE (Figura 1), nos quais adquiriu-se, durante o ano de 2019, uma amostra de cada marca disponível no momento da visita, mantendo-se a embalagem original, lacrada e não fracionada. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável com temperatura menor que 10°C e levadas imediatamente ao laboratório em que foram realizadas as análises, onde foram conservadas em refrigeração com temperatura menor que 6°C por 24 horas.

Em seguida, selecionou-se 25 g da amostra e adicionou em recipiente contendo 225 mL de água peptonada 1%. Houve então a coleta de 1 mL da diluição preparada para tubo contendo 10 mL de água peptonada 1%. Essa etapa foi repetida até a obtenção das diluições 1:10, 1:100 e 1:1000. Posteriormente 0,1 mL de cada diluição selecionada foi semeado em placas de Petri com meio Ágar Müller Hinton®, com auxílio da alça de Drigalski e incubadas a 40°C por um período de 24 a 48 horas (FAO, 1998).

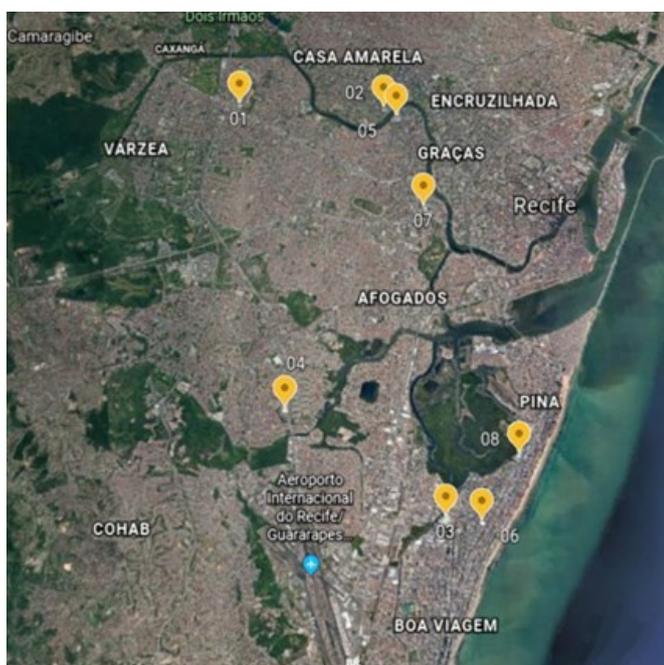


Figura 1. Localização dos pontos de coleta das amostras de queijo coalho na cidade de Recife-PE, Brasil, durante o ano de 2019.

As colônias sugestivas de *Enterococcus* spp. foram identificadas através de suas características morfo-tintoriais (coloração de Gram) (Stinghen et al., 2002) e bioquímicas (bile esculina, NaCl a 6,5% e catalase), sendo as espécies identificadas utilizando-se o equipamento automatizado de identificação VITEK 2® compact (Biomérieux, 2017), além dos testes bioquímicos sacarose, D-manitol e arabinose para a confirmação definitiva.

Para o teste de resistência antimicrobiana (TRA), foram testados onze agentes antimicrobianos de predileção contra microrganismos Gram positivos (Willems et al., 2005; Kobayashi et al., 2011; Passadouro et al., 2014), como é o caso de *Enterococcus* spp. - penicilina, ampicilina, eritromicina, tetraciclina, nitrofurantoína, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, teicoplanina, vancomicina e linezolida - através do método de disco-difusão em ágar descrito por Kirby e Bauer (Bauer et al., 1966). Para a suspensão bacteriana, utilizou-se a metodologia sugerida por Oplustil (2004). Com auxílio de um swab estéril, a suspensão foi semeada em meio ágar MüellerHinton® e, posteriormente, os discos impregnados com os antibióticos foram distribuídos na superfície do meio. A leitura dos halos de inibição e a posterior interpretação dos resultados, foram realizadas após a incubação das placas por 16-18 horas a $37\pm 1^\circ\text{C}$, sendo com a Vancomicina por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram

interpretados de acordo com Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2019).

Para a avaliação da produção de biofilme, foi utilizada a metodologia segundo Rodrigues et al. (2010), com adaptações. Em seguida, $100\mu\text{L}$ da solução foram inoculados em placas de microdiluição de 96 poços e seguiu-se a incubação a 37°C por 24 horas. Após este período, o conteúdo de cada poço foi aspirado cuidadosamente, e estes foram lavados três vezes com água destilada estéril. Após secagem em temperatura ambiente, as células aderidas foram coradas com $200\mu\text{L}$ violeta de genciana a 0,25%. Passados 5 minutos da aplicação do corante, os poços foram submetidos novamente à lavagem e secagem. Em seguida, foram adicionados $200\mu\text{L}$ de álcool:acetona na proporção 80:20. Em cada placa foi utilizado um poço contendo somente caldo TSB como branco, uma cepa de *Escherichia coli* ATCC® como controle negativo e os testes foram realizados em triplicata. A leitura da densidade óptica (DO) dos poços foi realizada por espectrofotometria a 620nm.

Para classificar os isolados quanto à produção de biofilme, utilizou-se a metodologia descrita por Stepanovic (2007) sendo estes classificados como: não produtor de biofilme; fraco produtor de biofilme; moderado produtor de biofilme; forte produtor de biofilme.

3 | Resultados e Discussão

Na análise microbiológica observou-se o crescimento de colônias características de *Enterococcus* spp. em todas as amostras. Após a identificação, observou-se 44,4% (16/36) de *Enterococcus faecalis*, 44,4% (16/36) de *Enterococcus faecium* e 11,2% (4/36) de *Enterococcus durans*.

A presença do gênero *Enterococcus* em todas as amostras analisadas é preocupante, devido isolados deste microrganismo estarem associados a infecções clínicas, representando um perigo para a saúde pública (Vicari et al., 2021).

Em um estudo realizado por Dias et al. (2019) com amostras de queijo de coalho fabricadas com leite cru e provenientes da região Agreste do estado de Pernambuco, das bactérias ácido lácticas encontradas, o maior número foi de *Enterococcus* spp., sendo 37,1% (29/78). O gênero *Enterococcus* também foi predominante entre as bactérias ácido lácticas (BAL) isoladas de queijo de coalho

produzido no estado do Ceará (Bruno e Carvalho, 2009), corroborando o atual estudo.

No estudo da resistência antimicrobiana observou-se que 25% (9/36) dos isolados apresentaram-se sensíveis a todos os antimicrobianos testados. A maioria dos isolados apresentou sensibilidade aos antimicrobianos descritos a seguir: 100% (36/36) à ampicilina, norfloxacin, linezolida, penicilina, levofloxacin e teicoplanina; 63,9% (23/36) à nitrofurantoína; 97,2% (35/36) à ciprofloxacina e vancomicina; 36,1% (13/36) à eritromicina; 77,8% (28/36) à tetraciclina.

Ainda no que diz respeito à resistência aos antimicrobianos testados, vale ressaltar que 55,5% (20/36) das cepas isoladas apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos preconizados para tratamento das infecções causadas por esse microrganismo (Willems et al., 2005; Kobayashi, 2011; Passadouro et al., 2014).

Nos resultados do estudo da resistência observou-se que 22,2% (8/36) foram resistentes à eritromicina e à tetraciclina; 2,7% (1/36) à

vancomicina; 36,1% (13/36) à nitrofurantoína, demonstrando que os isolados de *Enterococcus* spp. em queijo coalho foram resistentes aos antimicrobianos usados para o tratamento de processos infecciosos causados por esse agente, trazendo a preocupação do uso desses medicamentos na clínica e possível não resposta no combate do processo de uma possível infecção no homem.

Entre as três diferentes espécies de *Enterococcus* isoladas a partir do queijo de coalho, observou-se 100% de sensibilidade frente a vários antimicrobianos conforme indicado a seguir: *E. faecalis* (ampicilina-AM, linezolida-LN, levofloxacin-LE, nitrofurantoína-NI, norfloxacin-NO, penicilina-PE, teicoplanina-TE); *E. faecium* (ampicilina-AM, ciprofloxacina-CI, linezolida-LN, levofloxacin-LE, norfloxacin-NO, penicilina-PE, teicoplanina-TE, vancomicina-VA); *E. durans* (ampicilina-AM, ciprofloxacina-CI, linezolida-LN, levofloxacin-LE, norfloxacin-NO, penicilina-PE, teicoplanina-TE, vancomicina-VA) (Tabela 1).

Tabela 1. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Enterococcus* spp. obtidos de queijo de coalho comercializado em supermercados da cidade de Recife-PE, durante o ano de 2019

Agentes antimicrobianos	Espécies (N° isolados)							
	<i>Enterococcus faecalis</i> (16)		<i>Enterococcus faecium</i> (16)		<i>Enterococcus durans</i> (4)		Total = 36	
	S N(%)	R N(%)	S N(%)	R N(%)	S N(%)	R N(%)	S N(%)	R N(%)
Ampicilina	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Ciprofloxacina	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	35(97,2)	-
Eritromicina	14(87,5)	2(12,5)	11(68,8)	5(31,2)	3(75,0)	1(25,0)	28(77,8)	8(22,2)
Linezolida	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Levofloxacin	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Nitrofurantoína	16(100)	-	8(50,0)	8(50,0)	3(75,0)	1(25,0)	27(75)	9(25,0)
Norfloxacin	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Penicilina	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Teicoplanina	16(100)	-	16(100)	-	4(100)	-	36(100)	-
Tetraciclina	10(62,5)	6(37,5)	15(93,7)	1(6,2)	3(75,0)	1(25,0)	28(77,7)	8(22,2)
Vancomicina	15(93,7)	1(6,2)	16(100)	-	4(100)	-	35(97,2)	1(2,7)

S = sensível; R = resistente.

Apesar dos resultados frente à sensibilidade, é importante ressaltar que a presença da resistência antimicrobiana observada no estudo é preocupante, visto que pelo menos um isolado de cada espécie demonstrou resistência à eritromicina e tetraciclina, ao menos um isolado de *E. faecium* e *E. durans* apresentou resistência à nitrofurantoína, e um isolado de *E. faecalis* mostrou resistência à vancomicina. Essa resistência pode se dar pelo uso de antimicrobianos na medicina humana, na medicina veterinária e na produção animal, podendo levar à propagação de multirresistência devido a esses fatores (Morais et al., 2023).

No estudo de fatores de resistência de *Enterococcus* spp. isolados de amostras de queijo realizado por Elmali e Can (2018), verificou-se que 57% das 90 amostras estudadas apresentaram contaminação por este microrganismo e relatou que 34,4% das amostras isoladas de *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. durans* eram resistentes à vancomicina pelo método da difusão em disco, sendo este fato extremamente sério devido a seu uso para controlar Gram-positivos em ambiente hospitalar. Porto et al. (2016) relataram que 75,48% dos isolados de *Enterococcus* spp. provenientes de 53 amostras de queijo apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados em sua pesquisa, sendo 60,38% à eritromicina, 16,98% à norfloxacin, 11,33% à vancomicina, 9,44% à teicoplanina e 7,54% à tetraciclina. Rocha et al. (2018) observaram resultados de resistência de 19,0% à eritromicina, 15,0% à tetraciclina, 3,0% à vancomicina e 27,0% dos isolados da sua pesquisa apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados.

Sugere-se que o uso de antimicrobianos na alimentação animal como promotores de crescimento pode criar grandes reservatórios de genes de resistência a antibióticos transferíveis em vários ecossistemas e, conseqüentemente, uma possível rota de transmissão de *Enterococcus* spp. resistentes via cadeia alimentar poderia ser sugerida (Shepard e Gilmore, 2002). Sabe-se que *Enterococcus* spp. tendem a sofrer seleção a cada aplicação de antimicrobiano, levando à formação de um reservatório animal de cepas bacterianas resistentes, que podem infectar os seres humanos tanto por contato direto com animais como através da ingestão de alimentos de origem animal (Kaszanyitzky et al., 2007; Oliveira et al., 2010; Vignaroli et al., 2011; Silva et al., 2023).

No Brasil, o panorama da resistência bacteriana é uma realidade inquietante e o crescente surgimento de novas cepas de bactérias multirresistentes nos hospitais brasileiros vem causando preocupação entre os profissionais de saúde (Santos, 2004).

Na avaliação da capacidade de produção de biofilme todos foram positivos para a formação de biofilme, sendo 77,7% (28/36) isolados classificados como fracos formadores de biofilme, 22,2% (8/36) isolados como moderados formadores de biofilme e não houve nenhum forte formador de biofilme. Observou-se que 100% (4/4) dos isolados de *E. durans* foram fracos formadores de biofilme, 100% (16/16) de isolados de *E. faecium* foram fracos formadores de biofilme, 50% (8/16) de *E. faecalis* foram fracos formadores de biofilme e 50% (8/16) foram moderados formadores de biofilme. Rocha et al. (2018) obtiveram no seu estudo 22,0% dos isolados como fracos formadores de biofilme, não apresentando moderados e fortes formadores de biofilme, diferentemente do presente estudo.

Mesmo sabendo-se que diversos fatores encontrados na cadeia produtiva leiteira podem favorecer a contaminação do leite e seus derivados por biofilme e sendo a principal fonte dessa contaminação a higienização inadequada dos equipamentos usados na sua produção (Srey et al., 2013), ainda se estuda pouco a formação de biofilme na cadeia produtiva de queijo de coalho.

4 | Conclusão

A presença de *Enterococcus* spp. em queijo de coalho representa um risco à saúde pública no que diz respeito às doenças de transmissão alimentar, visto a ocorrência de cepas formadoras de biofilme e resistentes a antimicrobianos. Além disso, o monitoramento da resistência a antimicrobianos sintéticos torna-se importante no controle de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes, que representam um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Diante disso, mais estudos sobre a avaliação da qualidade microbiológica dos queijos de coalho, dos fatores de virulência e da resistência antimicrobiana das cepas de *Enterococcus* spp. são necessários, pois esse tipo de queijo é muito consumido e de grande importância para a economia do Nordeste. Essa pesquisa também servirá de alerta aos laticínios, produtores

de queijo de coalho e autoridades de saúde pública.

5 | Referências

Bauer, A.W.; Kirby, M.M.; Sherrin, J.D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45(4):493-496, 1966.

Barros, D.M. et al. Aspectos do queijo de coalho com ênfase na importância das boas práticas de fabricação no sistema de produção. **Brazilian Journal of Development**, 5(1): 67-93, 2019.

Biomerieux. **Vitek® 2 Compact System**, 2017. Disponível em: <<http://www.Biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-gp-id-card>>. Acesso em: 22 jul. 2019.

Bruno, L.M.; Carvalho, J.D.G. **Microbiota láctica de queijos artesanais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30p.

Campos, A.C.F.B; Souza, N.R; Silva, P.H.C.; Santana, A.P. Resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de frango. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(5): 575-80, 2013.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 28°Suplemento Informativo**. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2019. 177p.

Costa, L.D.F.X et al. Antimicrobial resistance of enterococci isolated from food in South Brazil: comparing pre- and post-RDC 20/2011. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 94(1): e20201765, 2022.

Costerton, J.W.; Stewart, P.S.; Greenberg, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, 248(5418): 1318-1322, 1999.

Dias, G.M.P. et al. Can coalho cheese lactic microbiota be used in dairy fermentation to reduce foodborne pathogens? **Scientia Plena**, 15(2): 1-9, 2019.

Eaton, T.J.; Gasson, M.J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. **Applied and Environmental Microbiology**, 67(4): 1628-1635, 2001.

Elmali, M.; Can, H.Y. The prevalence, vancomycin resistance and virulence genotypes of *Enterococcus* species recovered from different foods

of animal origin. **Veterinarski Arhiv**, 88(1): 111-124, 2018.

FAO. Food and Agricultural Organization. Validation of analytical methods for food control. Report of Joint FAO/IAEA Expert Consultation. **FAO Food and Nutrition Paper**, 58:1-19, 1998.

Kaszanyitzky, E.J. et al. Antimicrobial susceptibility of enterococci strains isolated from slaughter animals on the data of Hungarian resistance monitoring system from 2001 to 2004. **International Journal of Food Microbiology**, 115(1): 119-123, 2007.

Kobayashi, C.C.B.A. et al. Resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Enterococcus* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44(3): 344-348, 2011.

Lossouarn, J. et al. *Enterococcus faecalis* countermeasures defeat a virulent Picovirinae bacteriophage. **Journal Viruses**, 11(1): 48, 2019.

Maia, L.F.; Mücke, N.; Terra, M.R.; Ohashi, D.K.; Bússolo, T.B.; Furlaneto, M.C. Sensibilidade celular e de biofilme de *Enterococcus* sp. aos desinfetantes de uso industrial. In: Oliveira Júnior, J.M.B. **Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3**. Ponta Grossa: Atena, 2019. p.101-114.

Morais, E.A.L. et al. Os diversos impactos do uso de antimicrobianos na produção animal: uma revisão narrativa da literatura. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, 6(4): 3551-3563, 2023.

Nassu, R.T. et al. **Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos regionais e manteiga do Rio Grande do Norte**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 24.p

Oliveira, M.M.M.; Brugneta, D.F.; Piccoli, R.H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 69(3): 277-284, 2010.

Oliveira, S.C.P.L.; Silva, A.C.; Carvalho, M.G.X. Diagnóstico das condições higiênicas sanitárias do processo de fabricação de queijo de coalho no sertão paraibano. **Higiene Alimentar**, 32(284/285): 66-71, 2018.

Oplustil, C.P. et al. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2004. 340p.

Passadouro, R. et al. Avaliação do perfil de sensibilidade aos antibióticos na infecção urinária da

- comunidade. **Acta Médica Portuguesa**, 27(6): 737-742, 2014.
- Porto, B.C. et al. Determinantes de virulência em *Enterococcus* endógenos de queijo artesanal. **Revista Ciência Agronômica**, 47(1): 69-76, 2016.
- Riboldi, G.P.; Frazzon, J.; Azevedo, P.A. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 40(1): 125-128, 2009.
- Rocha, K.R. et al. Análise genotípica e fenotípica de *Enterococcus* spp. provenientes de amostras clínicas e de alimento. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, 23(1): 53-59, 2018.
- Rodrigues, L.B. et al. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. **Brazilian Journal of Microbiology**, 41(4): 1082-1085, 2010.
- Santos, N.Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto - Enfermagem**, 13(spe):64-70, 2004.
- Santos, K.M. et al. Brazilian artisanal cheeses as a source of beneficial *Enterococcus faecium* strains: characterization of the bacteriocinogenic potential. **Annals of Microbiology**, 64(4): 1463-1471, 2014.
- Shepard, B.D.; Gilmore, M.S. Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. **Microbes and Infection**, 4(2): 215-224, 2002.
- Shirtliff, M.E.; Mader, J.T.; Camper, A.K. Molecular interactions in Biofilms. **Chemistry & Biology**, 9(8): 859-871, 2002.
- Silva, M G.V et al. *Enterococcus* spp. resistente a antimicrobianos e formadores de biofilme em queijo de coalho. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, 6(1): 5-31, 2023.
- Srey, S.; Jahid, I.K.; Ha, S. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food Control**, 31(2): 572-585, 2013.
- Stepanovic, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **Journal Compilation**, 115(8): 891-899, 2007.
- Stinghen, A.E.M.; Albin, C.A.; Souza, H.A.P.H. **Coloração de Gram, como fazer, interpretar e padronizar**. Curitiba: Microscience, 2002. 70p.
- Terra, M.R.; Furlaneto, M.C.; Maia, L. Alimento como potencial reservatório de *Enterococcus* que albergam determinantes de virulência e resistência. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, 22(1): 86-93, 2018.
- Vicari, N.G. et al. Estratégias para controle de infecção hospitalar causada por *Enterococcus* vancomicina-resistentes: uma revisão integrativa. **Rev. Enfermagem UFPE online**, 15(1): 1-20, 2021.
- Vignaroli, C. et al. Multidrug-resistant *Enterococci* in meat and faeces and co-transfer of resistance from an *Enterococcus durans* to a human *Enterococcus faecium*. **Current Microbiology**, 62(5): 1438-1447, 2011.
- Willems, R.J. et al. Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. **Emerging infectious diseases**, 11(6): 821-828, 2005.