

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

VANESSA ARANTES PINTO PANNACE

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AGROINDÚSTRIA DE EMBUTIDOS
CÁRNEOS**

REALEZA

2022

VANESSA ARANTES PINTO PANNACE

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AGROINDÚSTRIA DE EMBUTIDOS
CÁRNEOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título do grau de bacharel em Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof. Dra. Karina Ramirez Starikoff

REALEZA

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Pannace, Vanessa Arantes Pinto
Contaminação microbiológica em agroindústria de
embutidos cárneos / Vanessa Arantes Pinto Pannace. --
2022.
27 f.:il.

Orientadora: Doutorado Karina Ramirez Starikoff

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2022.

I. Starikoff, Karina Ramirez, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

VANESSA ARANTES PINTO PANNACE

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM AGROINDÚSTRIA DE EMBUTIDOS
CÁRNEOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título do grau de bacharel em Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 24/ 03/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Karina Ramirez Starikoff– UFFS
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Susana Regina de Mello Schlemper- UFFS
Avaliador

Prof.^a Dr.^a Denise Maria Sousa de Mello- UFFS
Avaliador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre ao meu lado, preparando os caminhos e tudo o que precisei até o dia de hoje para chegar aonde estou. Agradeço aos meus pais, por me incentivarem, me apoiarem e oferecerem toda a condição necessária para que eu pudesse apenas estudar e me dedicar ao meu sonho. Ainda agradeço a eles, por terem confiado em mim e na minha decisão de estudar tão longe, pela crença inabalável da minha mãe na minha capacidade, e na fé intangível do meu pai de confiar que Deus sempre estaria comigo, além da confiança que tiveram ao me permitirem viver esta maravilhosa experiência de vida.

Sou grata ao meu esposo, por me apoiar por todos esses 5 anos, por me trazer serenidade quando eu mesma não a encontrava, por ser meu companheiro e grande incentivador dos meus sonhos. Agradeço a ele, por acreditar em mim, e por ver a capacidade que existe através dos meus medos e receios.

Agradeço a minha saudosa avó Maria Aparecida, que sempre deixou claro o orgulho que sentia de saber que sua neta seria a veterinária da família. Agradeço a ela, por todas as vezes que se preocupou com a minha estadia e minhas necessidades, e sempre esteve junto para suprir o que eu precisava.

Sou grata também às minhas amigas de curso, que em todos os desafios estavam ao meu lado para oferecer apoio e serem apoiadas, tornando a experiência da universidade mais leve e divertida. Por fim, agradeço aos professores que sempre se dedicaram a oferecer o melhor do conhecimento e assim permitir que minha formação fosse a melhor possível.

RESUMO

A formação de biofilmes em equipamentos associada à crescente resistência a desinfetantes comerciais e antibióticos são eventos que prejudicam a qualidade dos alimentos produzidos nas agroindústrias. Este trabalho objetivou verificar a capacidade de formação de biofilme e o perfil de resistência a desinfetantes comerciais e a antimicrobianos de duas cepas de *Klebsiella* sp. e uma cepa de *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) isolados de equipamentos de agroindústria de embutidos cárneos. Para a avaliação de biofilme utilizou-se a técnica de diluição em microplacas e para a determinação do perfil de resistência foi realizada a técnica de disco difusão em ágar gel. As bactérias *Klebsiella* sp. (2) e SCN apresentaram forte formação de biofilme, em contrapartida, a cepa *Klebsiella* sp. (1) demonstrou leve formação de biofilme. Ambas as cepas de *Klebsiella* sp. apresentaram resistência a ampicilina e clindamicina, e a cepa de SCN foi resistente à tetraciclina. Todas as bactérias foram resistentes ao álcool em gel, e somente o SCN demonstrou sensibilidade ao álcool líquido. Quanto ao iodo, a sensibilidade das bactérias foi baixa para *Klebsiella* sp. (1) e SCN, e ausente para *Klebsiella* sp. (2). Estatisticamente, o ciprofloxacino, clorexidina e hipoclorito de sódio apresentaram melhor efetividade. As bactérias formadoras de biofilme resistentes à higienização estão normalmente presentes no setor agroindustrial, desse modo é importante salientar a necessidade do aprimoramento dos procedimentos corretos de higienização pessoal e ambiental, a fim de diminuir a contaminação cruzada e destacar para o uso consciente dos antibióticos e desinfetantes disponíveis no mercado, com o objetivo de reduzir a resistência bacteriana.

Palavras-chave: antibacteriano; espectrofotômetro; sanitizantes.

ABSTRACT

The formation of biofilms on equipment associated with increasing resistance to commercial disinfectants and antibiotics are events that disturb the quality of food produced in agroindustries. This study aimed to verify the biofilm formation capacity and the resistance profile to commercial disinfectants and antimicrobials of two strains of *Klebsiella* sp. and a strain of coagulase-negative *Staphylococcus* (SCN) isolated from meat sausage agroindustries equipment. For biofilm evaluation, was used the dilution technique in microplates and for the determination of the resistance profile, the disk diffusion technique in agar gel was performed. The bacteria *Klebsiella* sp. (2) and SCN showed strong biofilm formation, in contrast, the strain *Klebsiella* sp. (1) demonstrated low biofilm formation. Both strains of *Klebsiella* sp. showed resistance to ampicillin and clindamycin, and the SCN strain was resistant to tetracycline. All bacteria were resistant to alcohol gel, and only the SCN showed sensitivity to liquid alcohol. As for iodine, the sensitivity of bacteria was low for *Klebsiella* sp. (1) and SCN, and absent for *Klebsiella* sp. (2). Statistically, ciprofloxacin, chlorhexidine and sodium hypochlorite showed better effectiveness. Biofilm-forming bacteria resistant to hygiene are normally present in the agro-industrial sector, so it is important to emphasize the need to improve correct procedures for personal and environmental hygiene, in order to reduce cross-contamination and highlight the conscious use of antibiotics and disinfectants available on the market, with the aim of reducing bacterial resistance.

Keywords: antibacterial; spectrophotometer; sanitizers.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
2.1	PREPARAÇÃO DOS INÓCULOS E PADRONIZAÇÃO.....	10
2.2	FORMAÇÃO DE BIOFILME.....	10
2.3	SENSIBILIDADE A DESINFETANTES E A ANTIBIÓTICOS.....	11
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4	CONCLUSÃO.....	22
5	REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

A determinação de Procedimentos Padronizados de Higienização Operacional (PPHO) adequados são medidas essenciais para todas as agroindústrias de alimentos. Estes procedimentos visam eliminar resíduos orgânicos e microrganismos oriundos da linha de produção, para que não se depositem na superfície dos maquinários e favoreça a formação de biofilmes, o que conseqüentemente, contribuiria para a contaminação microbiológica dos produtos, interferindo diretamente na qualidade e seguridade do que é oferecido ao consumidor (FABIANO; AGUERA; PRADO, 2020; SALES, 2020; SILVA *et al.*, 2020; COELHO; MOURA; ANDRADE, 2021).

Um programa inadequado de higienização de equipamentos, o uso de concentração subletal de desinfetantes e o tipo do material dos maquinários resultam em acúmulo de resíduos orgânicos na maquinaria industrial. Os microrganismos que naturalmente estão nos alimentos processados podem aderir em superfícies bióticas e abióticas formando microcolônias (BRASÃO, 2017; KIM *et al.*, 2018; ROY *et al.*, 2018). Estas microcolônias produzem e depositam polissacarídeos, que associados à matéria orgânica, constituem uma matriz extracelular de proteção. Esta estrutura é mais resistente à higienização e ao uso dos sanitizantes quando comparado ao microrganismo de forma isolada (BRASÃO, 2017; KIM *et al.*, 2018; ROY *et al.*, 2018).

Bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* e *Listeria monocytogenes* apresentam capacidade de formação de biofilme, sendo que a quantidade de biomassa que cada conjunto de microcolônias produz depende diretamente do material dos equipamentos (COSTA *et al.*, 2016).

Ademais, sanitizantes que são utilizados comumente na rotina têm demonstrado baixa eficiência biocida. Testes realizados com *S. aureus* demonstraram resistência à aplicação de álcool líquido 70% em superfícies contaminadas, e com relação à *Escherichia coli*, os álcoois 32° e 46° GL não apresentaram nenhum efeito bactericida (VOLKART; SPAGIARI; BIZANI, 2017).

Apesar da ação dos antibióticos e dos desinfetantes serem distintas, estudos indicam que o desenvolvimento de mecanismos de resistência a ambos os princípios ativos aumentou consideravelmente, o que é justificado em parte pela formação do biofilme que oferece aos microrganismos uma resistência maior do que teriam isoladamente (DEL POZO, 2018; KIM *et al.*, 2018; ROY *et al.*, 2018). Somado a isto, a resistência a antibióticos emerge ameaçando tanto a população humana quanto animal, dificultando o tratamento da casuística de doenças infecciosas (SÁNCHEZ-GARCÍA *et al.*, 2019; GARCÍA-BETANCUR *et al.*, 2021; MOJICA *et al.*, 2022).

Deve se acrescentar também que, estudos apontam que alguns microrganismos que desenvolvem mecanismos de resistência a desinfetantes demonstram serem menos susceptíveis a determinados antibióticos, como a *Salmonella spp.* e *Pseudomonas aeruginosa*, fato justificado pela utilização de concentrações de sanitizantes abaixo do indicado (KIM *et al.*, 2018; MACIEL; MACHADO; AVANCINI, 2019; BERGAMO *et al.*, 2020).

Deste modo, considerando a importância das medidas de higienização dos estabelecimentos e sua influência sobre a formação de biofilme, o crescente aumento da resistência aos biocidas ambientais e antimicrobianos utilizados comumente, e a importância de conhecer as estirpes bacterianas e seu comportamento com relação à formação de comunidades biológicas estruturadas, este trabalho teve por objetivo verificar a capacidade de formação de biofilme e o perfil de resistência, a desinfetantes comerciais e a antimicrobianos, de bactérias que foram isoladas em equipamentos de uma agroindústria de embutidos cárneos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nos laboratórios de Microbiologia da Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Realeza. As bactérias utilizadas foram isoladas de um equipamento de corte de uma agroindústria de embutido cárneo. Amostras coletadas por esfregaço de suabe estéril umedecido em solução salina 0,9% (transportados em tubos de ensaio com 5 ml da mesma solução) foram obtidas de um experimento anterior. Estas amostras foram semeadas em ágar Salmonella Shigella, Sal Manitol, Eosina azul de metileno (EMB) e MacConkey. Foram avaliados os comportamentos da atividade bioquímica em ágar Triplo Açúcar Ferro (TSI), Indol Sulfeto Motilidade (SIM), Lisina Ferro (LIA), citrato, caldo ureia além de coloração de Gram, catalase e coagulase para a identificação das bactérias.

2.1 PREPARAÇÃO DOS INÓCULOS E PADRONIZAÇÃO

Colônias de cada bactéria foram repassadas para tubos de ensaio com 10 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) e mantidas a 37°C/24 horas. Depois, em tubos de ensaio contendo 10 ml de caldo Triptona soja (TSB) estéril enriquecido com 1% de glicose foram adicionados 800 µL do inóculo e submetidos à leitura no espectrofotômetro, em comprimento de onda de 625 nanômetros (nm). A concentração foi ajustada até que se obtivesse uma turvação com 0,8 a 1,3 angstroms (densidade aproximada de 1 a 2.10⁸ UFC/ml). Utilizou-se um tubo de TSB estéril enriquecido com 1% de glicose como controle (branco).

2.2 FORMAÇÃO DE BIOFILME

A avaliação da formação de biofilme foi baseada na metodologia utilizada por Stepanovic *et al.* (2004) com pequenas modificações. Foi utilizado duas microplacas em fundo U, sendo que para cada bactéria e controle negativo dedicou-se duas fileiras completas (24 micropoços).

As fileiras ímpares foram preenchidas com 200 µL de inóculo, e para o controle negativo depositou-se 200 µL de caldo TSB enriquecido com glicose 1% estéril. As microplacas foram envolvidas em plástico-filme e incubadas a 37° C/48h. Após este período, cada micropoço foi lavado 3 vezes com 200 µL de solução salina 0,9% e mantido em estufa até secar.

Posteriormente foram depositados 200 µL de metanol (REATEC) por 15 minutos em cada micropoço. Após este período o fixador foi removido e as placas retornaram para a estufa onde permaneceram até secar. Em seguida, adicionou em cada micropoço 200 µL de violeta Giemsa a 1% (Laborclin) por 10 minutos. Logo depois os micropoços foram lavados três vezes com solução salina 0,9%. Cada micropoço foi então ressuspensão utilizando 200 µL ácido acético glacial (Êxodo científica) a 30%.

As microplacas foram submetidas à leitura espectrofotométrica (ELISA) em absorvância de 625 nm. Foram calculadas as médias de densidade óptica dos doze micropoços destinados a cada uma das bactérias.

Utilizou-se a metodologia descrita por Stepanovic *et al.* (2004) para classificar a formação de biofilme, com base nas categorias a seguir:

$DOb < DOc$ = Ausência da formação de biofilme

$DOc < DOb < (2x DOc)$ = Fraca formação de biofilme

$(2x DOc) < DOb < (4x DOc)$ = Moderada formação de biofilme

$(4x DOc) < DOb$ = Forte formação de biofilme

Sendo que, DOb refere-se à densidade óptica obtida para as bactérias e DOc à densidade óptica obtida pelo controle negativo.

2.3 SENSIBILIDADE A DESINFETANTES E A ANTIBIÓTICOS

Para a avaliação da sensibilidade aos desinfetantes foram utilizadas as formulações comerciais: Álcool líquido 70 INPM (Araucária®), álcool em gel 65 INPM (Cocamar®), hipoclorito de sódio puro na concentração de 2,0-2,5% p/p (YPE®), clorexidine 2% e iodo 1% (Rodeine®).

Os antibióticos testados foram Clindamicina 2µg (Cód. 640104 Laborclin), Ampicilina 10µg (Cód.640606 Laborclin), Gentamicina 10µg (Cód.640613 Laborclin), Ciprofloxacina 5µg (Cód. 640100 Laborclin) Sulfazotrim 25µg (Cód. 640619 Laborclin) e Tetraciclina 30µg (Cód. 640621 Laborclin).

Os testes foram realizados em triplicata, ou seja, três discos de papel filtro estéril para cada desinfetante e três discos de cada antibiótico.

Com base nas normas metodológicas estipuladas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute manual (CLSI, 2003) e na metodologia de Bandeira *et al.* (2019), realizaram-se os testes de disco difusão (Kirby-bauer).

Para cada bactéria, foram preparadas 11 placas de petri preenchidas com 25 ml de ágar Mueller-Hinton, nas quais foram semeados os inóculos padronizados, com auxílio de suabe estéril. Posteriormente foram depositados os discos de papel filtro estéreis, preenchidos com 20 µL de desinfetante comercial e os discos dos antibióticos. Em seguida as placas foram incubadas a 37° C/24h. Após este período, com a utilização de lupa e régua simples, os halos formados em cada placa foram mensurados.

Seguindo a metodologia descrita por Soares *et al.* (2016) foi realizada a avaliação da sensibilidade para os desinfetantes comerciais baseada no diâmetro do halo inibitório seguindo as seguintes categorias:

Sensibilidade ausente = para diâmetros < 8 mm.

Baixa sensibilidade = diâmetros entre 9 – 14 mm.

Moderadamente sensível = diâmetros entre 15 – 19 mm.

Alta sensibilidade = diâmetros > 20 mm.

Os halos inibitórios obtidos para os antibióticos foram analisados de acordo com o proposto pela tabela de pontos de corte clínico do BrCAST (2021) para cada bactéria de acordo com cada antimicrobiano testado. Foram utilizados como base de comparação os valores estipulados para a ordem *Enterobacteriales* e gênero *Staphylococcus* spp. A classificação foi realizada baseada em 3 categorias: alta sensibilidade, sensibilidade moderada (necessita de aumento de dose) e ausência de sensibilidade.

Os dados obtidos foram analisados com o auxílio do método de Scott Knott em nível de segurança de 5% através do software SISVAR. Este teste busca agrupar as médias, de modo que fiquem livres de ambiguidade de resultados (BHERING *et al.*, 2008). As bactérias foram consideradas como “Fonte da variação” e os halos obtidos para os antibióticos e desinfetantes como “variáveis”. A significância estatística foi considerada quando o p-valor ($Pr > Fc$) apresentou-se menor que 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos comportamentos e atividades bioquímicas permitiram identificar uma cepa de *Staphylococcus* sp. coagulase negativo (SCN) e duas cepas de *Klebsiella* sp.

Para a classificação da capacidade de formação de biofilme realizou-se a média das densidades ópticas obtidas dos 24 micropoços destinados a cada bactéria.

O SCN apresentou forte formação de biofilme quando comparadas à densidade óptica do controle negativo. Este resultado coincide com os achados de Israel *et al.* (2018), Leite *et al.* (2019) e Chagas *et al.* (2020), que também verificaram a formação de biofilme de diferentes espécies deste gênero.

As duas cepas de *Klebsiella* sp., demonstraram respectivamente, fraca e forte capacidade de formação de biofilme, resultado que demonstra a diferença entre ambas as cepas, apesar de serem do mesmo gênero.

Freitas (2019) utilizando 40 isolados clínicos de *K. pneumoniae* buscou estudar a capacidade de formação de biofilme associado a identificação de genes de resistência de todos os isolados, e concluiu que a presença ou ausência de determinados genes influenciam na resposta de formação de biofilme apesar de serem da mesma espécie.

Silva (2019), também estudando isolados de *K. pneumoniae* e *K. oxytoca* obtidas das mãos de profissionais da saúde, verificaram variações quanto à capacidade de formação de biofilme deste gênero.

Sendo assim, torna-se provável que a divergência entre a capacidade de formar biofilme entre as cepas de *Klebsiella* sp. isoladas neste estudo esteja relacionada à espécie e/ou às enzimas de resistência que as mesmas apresentam. Além disso, deve-se considerar que a formação de biofilme não está relacionada somente com a estrutura fenotípica celular, mas também com a supressão ou estímulo de fatores genéticos dependentes das condições ambientais (BERGAMO *et al.*, 2020).

A formação de biofilmes em equipamentos agroindustriais permite que as bactérias afetem os produtos alimentícios produzidos e promovam sua deterioração, o que contribui para o desenvolvimento de intoxicações alimentares aos consumidores, além de favorecerem a transmissão de genes de resistência a antibióticos, isso porque estes aglomerados de microrganismos apresentam maior resistência quando comparados à forma isolada dos patógenos (DEL POZO, 2018; DUMARU; BARAL; SHRESTHA, 2019; ROY *et al.*, 2018; VERÍSSIMO; SOUZA; RISTOW, 2021).

Os SCN, além de formadores de biofilme, são patógenos que albergam uma variedade de genes de resistência, incluindo os de resistência à meticilina, o que compromete o tratamento de indivíduos infectados por estas bactérias (SANTOS, 2018; GARCÍA *et al.*, 2019). Já com relação ao gênero *Klebsiella* sp., estudos indicam que este patógeno está entre as principais enterobactérias causadoras de infecção relacionadas à assistência à saúde (ALVIM; COUTO; GAZZINELLI, 2019).

Em relação à sensibilidade dos microrganismos de acordo com os antibióticos testados, os resultados obtidos constam na Tabela 1. As duas cepas de *Klebsiella* sp. foram identificadas separadamente como (1) e (2), isso porque os resultados obtidos para ambos os testes (biofilme e sensibilidade a desinfetantes e antibióticos) indicaram diferenças significativas entre os isolados.

Tabela 1- Médias e desvio padrão (D) dos halos inibitórios (mm) obtidos para os antimicrobianos (ANTB) e classificação quanto à sensibilidade (SS).

ANTB	<i>Klebsiella</i> sp. (1)			<i>Klebsiella</i> sp. (2)			SCN		
	Média	D	SS	Média	D	SS	Média	D	SS
Ciprofloxacino	37,30	0,50	Alta	34,40	0,62	Alta	30,70	2,39	Moderada
Gentamicina	23,47	0,29	Alta	19,40	0,43	Alta	22,80	0,54	Alta
Tetraciclina	29,63	0,69	Alta	25,07	0,54	Alta	8,77	0,09	Ausente
Sulfazotrim	26,17	1,15	Alta	15,33	1,18	Alta	24,40	1,07	Alta
Ampicilina	6,80	0,54	Ausente	0,00	0,00	Ausente	18,87	0,62	Alta
Clindamicina	0,00	0,00	Ausente	0,00	0,00	Ausente	23,77	0,33	Alta

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Nota-se que dentre os antibióticos testados, a clindamicina e a ampicilina não apresentaram sensibilidade para as duas cepas de *Klebsiella* sp. de acordo com os pontos de corte estabelecidos para *Enterobacteriales* (BrCAST, 2021). Sousa *et al.* (2019), utilizando isolados de *K. Pneumoniae* de animais silvestres e domésticos concluíram que 94% apresentaram resistência a ampicilina, o que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho. Esta resistência é justificada pela produção de enzimas hidrolíticas responsáveis pela inativação do princípio ativo ao qual compõe o grupo dos β -lactâmicos (ZHANG *et al.*, 2018; MOBASSERI *et al.*, 2019; RARO *et al.*, 2020).

Valores comparativos de perfis de resistência de *Klebsiella* sp. em relação à clindamicina não foram encontrados. Provavelmente, esta escassez de informações é justificada

pelo fato de que o grupo das lincosamidas não está incluído no arsenal terapêutico utilizado para o combate de gram negativos, o que também comprova a ineficácia deste antibiótico (TAVARES, 2014; DUARTE *et al.*, 2019).

A gentamicina, ciprofloxacino e sulfazotrim apresentaram eficiente efeito de sensibilidade sobre as cepas de *Klebsiella* sp., o que está em consonância ao que foi demonstrado por Gonçalves *et al.* (2021), que encontraram para tais antibióticos valores de sensibilidade de respectivamente de 56%, 56% e 33% em relação a isolados de *Klebsiella pneumoniae*. Isto sugere que, a depender das características genéticas e fenotípicas, estes antibióticos podem ser eficazes.

Em relação à cepa de SCN, a sensibilidade para tetraciclina e ciprofloxacino foram respectivamente ausente e moderada. Santana *et al.* (2022) determinaram o perfil de resistência a antibióticos de SCN recuperados de jabutis, ao qual foi identificada para tetraciclina uma frequência de 29,1% de resistência, e para ciprofloxacino 100% de sensibilidade frente às estirpes.

Apesar da classificação quanto à sensibilidade ter sido moderada de acordo o BrCAST (2021), o diâmetro do halo de inibição para ciprofloxacino foi consideravelmente eficaz (Tabela 1), constituindo um panorama satisfatório contra estas bactérias. Já no que se refere aos efeitos da tetraciclina, o estudo citado salienta a ineficácia deste antibiótico no tocante às bactérias SCN.

Mutações específicas nos sítios de ligação alvo dos antibióticos impedem a união do princípio ativo ao ribossomo, além disso há a capacidade de extrusão bacteriana através de bomba de efluxo das drogas. Estes são alguns dos mecanismos que promovem a resistência ao ciprofloxacino e a tetraciclina, além do fato de serem drogas amplamente utilizadas, o que favorece diretamente mutações e resistência antimicrobiana (TAVARES, 2014; GASTELO ACOSTA; MAGUIÑA VARGAS, 2020).

A estirpe de SCN estudada neste trabalho apresentou-se altamente sensível à lincosamidas e beta-lactâmicos. Este achado se contrapõe ao encontrado por Bolzan (2020), que ao estudar os microrganismos relacionados à infecção sanguínea, definiu um perfil de resistência sólido para uma variedade de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de hemoculturas, quanto ao uso de ampicilina e clindamicina. Por sua vez, Pedroso (2018) estudando os fatores de virulência e resistência a antimicrobianos de SCN isolados de hospitais,

verificou uma frequência de resistência de 100% e 61,5-91% para benzilpenicilina e clindamicina respectivamente, instituindo um aumento do número de linhagens resistentes.

Os estudos de Pedroso (2018) e Bolzan (2020) são indicativos do potencial mutagênico do SCN, e dessa forma, a somatória de tais evidências acrescidas aos resultados demonstrados na Tabela 1 podem indicar que a cepa de SCN isolada no setor agroindustrial de produtos cárneos apresenta potencial de multirresistência. Para confirmar isto, é necessário ampliar o espectro de antibióticos testados.

A utilização abusiva destes diferentes antimicrobianos para o tratamento de humanos e animais associado ao descarte inadequado no meio ambiente são fatores que desafiam a sobrevivência bacteriana e influenciam no desenvolvimento da resistência em diferentes graus (SÁNCHEZ-GARCÍA *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2019; GARCÍA-BETANCUR *et al.*, 2021).

Bactérias do gênero *Klebsiella* spp. são patógenos oportunistas e comensais do trato respiratório e gastrointestinal, que principalmente em imunocomprometidos pode ocasionar um quadro de infecção e bacteremia (WANG *et al.*, 2020; WYRES; LAM; HOLT, 2020). Os SCN são microrganismos comensais de pele e responsáveis por infecções de difícil combate na rotina clínica (GARCÍA *et al.*, 2019).

Um ponto em comum entre estes dois tipos de bactérias é que ambas desenvolveram mecanismos de resistência a um ou mais antibióticos, como por exemplo, o grupo de bactérias denominado *K. pneumoniae* multirresistentes. Desse modo, salienta-se que a presença destas cepas na linha de produção de produtos cárneos, remete à importância da sanidade e controle de qualidade alimentícia para que seja evitado danos à saúde pública.

Em relação à sensibilidade dos microrganismos de acordo com os desinfetantes testados, os resultados obtidos constam na Tabela 2.

Tabela 2 - Médias e desvio padrão (D) dos halos inibitórios (mm) obtidos para os desinfetantes e classificação quanto à sensibilidade (SS).

Desinfetante	<i>Klebsiella</i> sp. (1)			<i>Klebsiella</i> sp. (2)			SCN		
	Média	DP	SS	Média	DP	SS	Média	DP	SS
Álcool líquido	2,40	3,39	Ausente	7,93	0,46	Ausente	9,33	0,82	Baixa
Álcool em gel	0,00	0,00	Ausente	0,00	0,00	Ausente	0,00	0,00	Ausente
Iodo	9,46	1,48	Baixa	7,90	0,14	Ausente	11,03	0,12	Baixa
Clorexidine	18,43	0,34	Moderada	17,03	0,34	Moderada	25,20	2,60	Alta

Hipoclorito	27,30	1,69	Alta	31,20	0,09	Alta	22,30	0,12	Alta
-------------	-------	------	------	-------	------	------	-------	------	------

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

No que diz respeito aos desinfetantes comerciais, percebe-se que para o álcool em gel houve total ineficiência para com as três cepas de bactérias testadas. A forma física de apresentação do álcool em gel teoricamente retardaria a evaporação, e somado a sua hidratação (°INPM) elevaria o tempo de exposição dos microrganismos ao princípio ativo e facilitaria a entrada celular (VOLKART; SPAGIARI; BIZANI, 2017; TOIGO *et al.*, 2020).

No entanto, Toigo *et al.* (2020) determinaram baixa efetividade do álcool em gel hidratado frente às enterobactérias. A constatação desta ausência de sensibilidade das enterobactérias pode ser justificada pela parede celular reduzida, o que diminui a taxa de absorção do álcool. Além disso, a formulação de 65 °INPM utilizada neste trabalho, contribui para reduzir a permeabilidade do princípio ativo através da membrana, devido à formulação desidratada (VOLKART; SPAGIARI; BIZANI, 2017; TOIGO *et al.*, 2020).

Faria (2020) buscou avaliar a presença de bactérias nas mãos de profissionais de saúde após higienização com álcool em gel, e como resultado obteve que a maioria dos isolados bacterianos apresentava SCN seguido por *Klebsiella pneumoniae*. Estes achados, apesar de também dependerem das técnicas de higienização pessoal, demonstram a possibilidade de resistência bacteriana, fato em concordância ao demonstrado por este estudo.

Por fim, considerando a apresentação física do álcool em gel, é importante também não descartar falhas analíticas intrínsecas como o coeficiente de solubilidade no meio de cultura e no disco de papel que poderiam diminuir o alcance de concentrações letais do princípio ativo sobre os microrganismos.

Referente à resposta de sensibilidade dos microrganismos ao álcool líquido, está demonstrado que ambas as cepas de *Klebsiella sp.* foram 100% resistentes ao efeito do desinfetante, e que o SCN apresentou baixa sensibilidade ao mesmo. Em consonância a estes resultados, Soares (2018) avaliando a contaminação microbiológica de superfícies hospitalares após higienização com álcool líquido 70 °INPM, identificou a presença de bactérias do gênero *Klebsiella sp.* e *Staphylococcus sp.* É possível que a ausência de sensibilidade seja justificada pela acelerada capacidade de evaporação que o álcool líquido possui em detrimento da sua forma em gel (ARAÚJO; MELO; FORTUNA, 2019). No entanto, para ambas apresentações físicas não houve efeitos significativos, o que possivelmente indica o desenvolvimento de mecanismos de resistência por parte dos microrganismos.

De acordo com este estudo, o clorexidine 2% apresentou efeitos moderados quanto a sensibilidade para as bactérias do gênero *Klebsiella* sp., em contrapartida, para SCN, este mesmo desinfetante apresentou alta sensibilidade. Além disso, o hipoclorito de sódio manifestou melhor performance de sensibilidade para as três cepas estudadas.

Bleriot *et al.* (2020), analisando cepas de *Klebsiella pneumoniae* e seu perfil de sensibilidade ao clorexidine, determinaram níveis de adaptação molecular destes patógenos frente a este desinfetante, além de associarem este evento ao desenvolvimento de resistência a antibióticos como a colistina.

Desse modo, é possível que em um futuro próximo, as cepas de *Klebsiella* sp. que foram isoladas da agroindústria em questão, passem a se adaptar e serem mais resistentes à utilização de clorexidine como ferramenta de higienização.

Por sua vez, Santos *et al.* (2018) avaliando a eficácia de desinfetantes utilizados no pré-dipping contra *Staphylococcus* spp. em tempos específicos, chegaram à conclusão de que o clorexidine 2% e o hipoclorito de sódio 2% são os desinfetantes de eleição em relação a este gênero de bactérias, desfecho também encontrado no presente trabalho.

Em relação ao iodo 1%, este apresentou efeitos inferiores ao clorexidine, sendo classificado como efeito de sensibilidade baixo a ausente para as três bactérias. Silva *et al.* (2021) apresentaram resultados divergentes ao estudar a sensibilidade de SCN isolados do leite de vacas a variadas concentrações de iodo. O autor conclui que a concentração de 1% é efetiva para o combate destes microrganismos. Estes resultados conflitantes podem ser justificados pela diferença da espécie de SCN estudada, o ambiente em que foram obtidas, os métodos de aplicação dos desinfetantes nos locais onde foram resgatadas tais bactérias, diferenças intrínsecas dos testes analíticos realizados em cada trabalho, ou ainda o surgimento de um processo de resistência espontâneo.

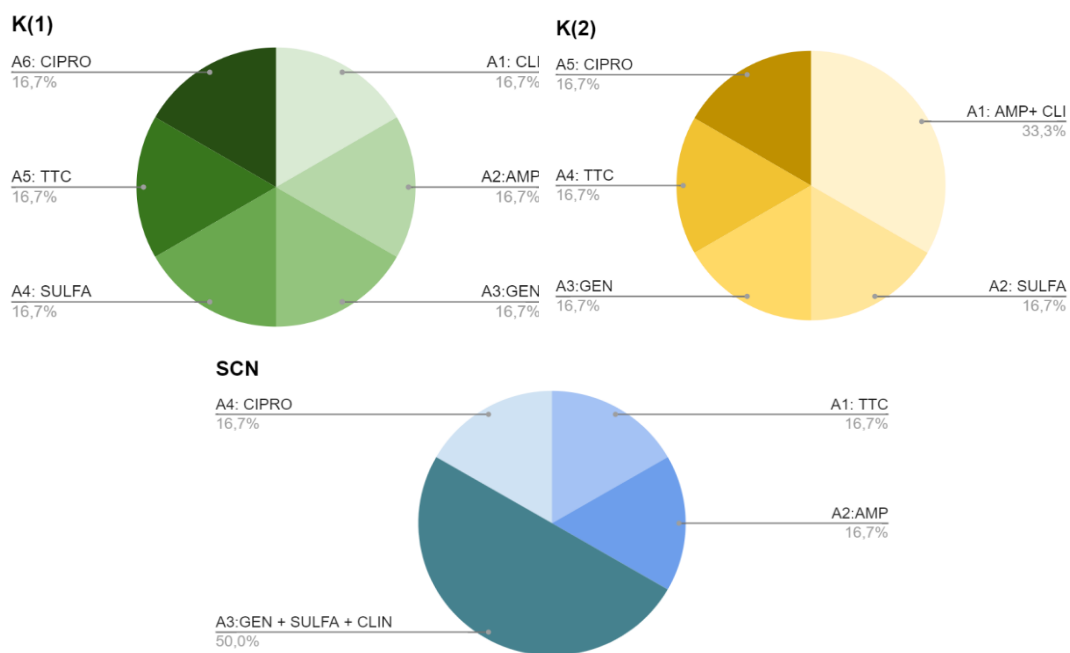
Chen *et al.* (2020), estudando o perfil genético e de resistência de enterobactérias resistentes a carbapenem contra desinfetantes de uso clínico comum, identificaram que a presença de genes de resistência em determinadas estirpes de *Klebsiella pneumoniae* estreitaram a susceptibilidade ao iodo 0,1%. Estes achados reforçam os resultados encontrados para as cepas de *Klebsiella* sp. em relação ao iodo 1%, que apesar de uma concentração maior do que a utilizada por Chen *et al.* (2020) ainda foi insuficiente para haver sensibilidade.

É importante salientar que, a resistência à desinfetantes e a consequente adaptação dos microrganismos a estes tem sido associada a diminuição da susceptibilidade aos antibióticos

(MACIEL; MACHADO; AVANCINI, 2019; BLERIOT *et al.*, 2020). Desse modo, há a possibilidade de que o uso inadequado de desinfetantes comerciais nas agroindústrias fomente mutações genéticas responsáveis pela resistência a antimicrobianos, favorecendo o desenvolvimento de bactérias multirresistentes que perturbam a saúde pública.

Com relação a análise estatística, para cada variável houve significância estatística referente às fontes de variação ($Pr > FC$ menor que 0,05%), o que permitiu o agrupamento dos microrganismos de acordo com a efetividade do tratamento (Figuras 1 e 2), que por sua vez determina os melhores e piores tratamentos para cada bactéria de acordo a relevância estatística.

Figura 1- Agrupamento de tratamentos com antibióticos de acordo com a significância estatística conforme o teste analítico de Scott Knott.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Nota: Os agrupamentos de tratamentos variam de A1 a A6, sendo do menos ao mais efetivo respectivamente.

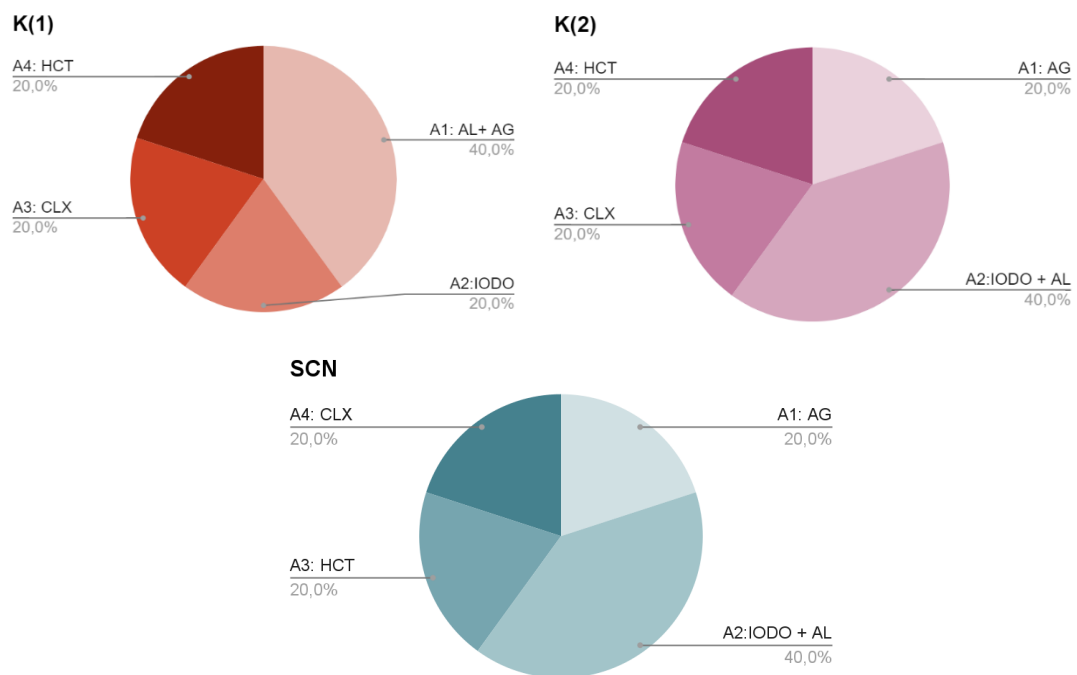
Legenda: CIPRO= Ciprofloxacino; AMP= Ampicilina; GEN= Gentamicina; SULFA= Sulfazotrim; TTC= Tetraciclina; CLI= Clindamicina; SCN= *Staphylococcus coagulase negativo*; K (1) = *Klebsiella* sp. (1); K (2) = *Klebsiella* sp. (2).

Os gráficos acima ilustram os agrupamentos de tratamentos, sendo que os grupos variaram de A1 a A6. Grupos com valores maiores, como A6, representam o tratamento de melhor efetividade, em contrapartida, conforme essa numeração decresce, tem-se os agrupamentos de tratamentos que foram estatisticamente menos efetivos.

Para *Klebsiella* sp. (1) todos os antibióticos apresentaram efeitos de sensibilidade distintos quanto ao halo inibitório. Já com relação à *Klebsiella* sp. (2) os tratamentos com ampicilina e clindamicina não apresentaram diferenças estatisticamente significativas e ambos foram classificados no agrupamento de menor taxa de sensibilidade (A1).

Por fim, para a cepa de SCN os valores de halos inibitórios obtidos para gentamicina, sulfazotrim e clindamicina também não apresentaram diferença estatística entre si, todavia todos foram relativamente eficientes por estarem inclusos no agrupamento A3 (sensibilidade moderada), além disso, a tetraciclina foi classificada estatisticamente no agrupamento A1, caracterizando sua ineficácia contra este microrganismo. Estatisticamente, o antibiótico com maior eficácia para as três cepas de bactéria, foi o ciprofloxacino.

Figura 2- Agrupamento de tratamentos com desinfetantes de acordo com a significância estatística conforme o teste analítico de Scott Knott.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Nota: Os agrupamentos de tratamentos variam de A1 a A4, do menos ao mais efetivo respectivamente.
 Legenda: AL= Álcool líquido; AG= Álcool gel; CLX= Clorexidine; HCT= Hipoclorito; SCN= *Staphylococcus* coagulase negativo; K (1) = *Klebsiella* sp. (1); K (2) = *Klebsiella* sp. (2).

Para os desinfetantes foi possível realizar quatro agrupamentos (A1, A2, A3 e A4) de acordo a Figura 2. Para *Klebsiella* sp. (1) o álcool em gel e líquido foram ineficazes, e dessa forma, ambos compõem o agrupamento A1 que se refere aos tratamentos com menor eficácia.

Para *Klebsiella* sp. (2) e SCN, o iodo e o álcool líquido estatisticamente apresentam efeitos semelhantes para estes microrganismos, e deste modo, compõem o grupo A2 (sensibilidade baixa a ausente).

Para as duas cepas de *Klebsiella* sp., estatisticamente, o hipoclorito de sódio foi o mais eficiente, seguido do clorexidine. Em contrapartida, para SCN o desinfetante mais eficaz estatisticamente foi o clorexidine seguido do hipoclorito de sódio.

CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível estabelecer que o ciprofloxacino foi o antibiótico que apresentou maior efetividade, e que o clorexidine e o hipoclorito de sódio são as melhores escolhas para higienização de equipamento nesta indústria de produtos cárneos.

Desinfetantes de uso comum como álcool em gel, álcool líquido e iodo comumente utilizados em diferentes ambientes, inclusive na indústria de alimentos, apresentaram ineficiência perante bactérias pesquisadas. Adicionado a isto, tais microrganismos apresentam resistência variada a antibióticos utilizados comumente em tratamentos clínicos.

O conhecimento da capacidade de formação de biofilme pelas bactérias comumente presentes na linha de produção permite que seja definido pela agroindústria medidas que evitem este problema, o que é mais vantajoso, já que o combate a estas microcolônias torna-se dificultoso à medida que se estabelecem. Além disso, combater preventivamente a formação de biofilme também evita mutações genéticas que favorecem o desenvolvimento da resistência a antibióticos e desinfetantes.

Sendo assim, para uma melhor performance industrial, recomenda-se que seja implementado e/ou aprimorado os procedimentos padrão de higiene operacional (PPHO), com ênfase na higiene pessoal dos colaboradores através de cursos profissionalizantes, e que seja reavaliado a metodologia de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e seus respectivos métodos de monitoramento, com base no que foi evidenciado por este estudo.

REFERÊNCIAS

- ALVIM, A. L.; COUTO, B. R.; GAZZINELLI, A. Perfil epidemiológico das doenças relacionadas à assistência à saúde causadas por Enterobactérias produtoras de Carbapenemase. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 53, 2019.
- ARAÚJO, L. F.; MELO, T. N.; FORTUNA, J. L. Avaliação da eficácia do álcool comercial para desinfecção de superfícies. **Revista Científica do ITPAC**, v. 12, n. 2, p. 66-71, 2019.
- BANDEIRA, N. C. *et al.* Ação de antissépticos e desinfetantes de uso doméstico sobre *Enterococcus* sp. isolados do arroio Dilúvio, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 17, n. 2, p. 77-86, 2019.
- BERGAMO, G. *et al.* Formação de biofilmes e resistência a antimicrobianos de isolados de *Salmonella* spp. **Ciência Animal Brasileira**, v. 21, 2020.
- BHERING, L. L. *et al.* Alternative methodology for Scott-Knott test. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, vol. 8, p. 9–16, 2008.
- BLERIOT, I. *et al.* Mechanisms of tolerance and resistance to chlorhexidine in clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* producers of carbapenemase: Role of new type II toxin-antitoxin system, PemIK. **Toxins**, v.12, n. 9, p. 566, 2020.
- BOLZAN, L. P. **Perfil microbiológico de hemoculturas positivas de pacientes internados em hospital na cidade de Santa Maria**. 2020. Trabalho de conclusão de especialização (Curso de especialização em microbiologia clínica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2020.
- BRASÃO, S. C. **Biofilmes de Salmonella Minnesota: formação, influência da superfície, inibição por agentes químicos e importância do período entre tratamentos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.
- BrCAST. Tabela de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. **Brazilian committee on Antimicrobial susceptibility testing**, v. 1, 91 p., 2021.
- CHAGAS, L. G. *et al.* Avaliação da formação de biofilme por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* em revestimentos para aço inox compostos por polipropileno com zeolita e polipropileno com vidro e prata. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e8439109125-e8439109125, 2020.
- CHEN, Y. *et al.* Determining the susceptibility of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains against common disinfectants at a tertiary hospital in China. **BMC infectious diseases**, v. 20, n.1, p. 88, 2020.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard**— 8ª edição. Document M2- A8, Wayne, Pennsylvania USA, Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, 2003. ISBN 1-56238-485-6.

COELHO, R. H.; MOURA, G. S.; ANDRADE, V. DE O. Contaminação de alimentos e seus fatores predisponentes: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 10071-10087, 2021.

COSTA, K. *et al.* Formação de biofilme bacteriano em diferentes superfícies de indústrias alimentícias. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, pág. 75-82, 2016.

DEL POZO, J. L. Biofilm-related disease. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 16, n.1, p. 51–65, 2018.

DUARTE, S. M. *et al.* Revisão Sistemática da Resistência e Farmacodinâmica de Antibióticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 5 n. 10, p. 21476-21489, 2019.

DUMARU, R.; BARAL, R.; SHRESTHA, L. B. Estudo da formação de biofilme e padrão de resistência a antibióticos de Bacilos Gram-negativos entre os isolados clínicos em BPKIHS, Dharan. **BMC Research Notes**, v. 12, n.1, p. 1-6, 2019.

FABIANO, G. G.; AGUERA, R. G.; PRADO, D. B. Eficiência de detergentes na remoção de biofilmes de cepa de *Escherichia coli* em superfície de aço inoxidável. **Revista Uningá**, v. 57, n. 4, p. 46-56, 2020.

FARIA, G. DE O. **Bactérias presentes nas mãos de profissionais de uma unidade neonatal antes e após a higienização das mãos com álcool em gel.** 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

FREITAS, Catarina Fernandes de. **Efeito da associação de antimicrobianos, gene de resistência *blaKPC* e genes de virulência na formação do biofilme por isolados de *Klebsiella pneumoniae*.** 2019. Teses de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Pernambuco, 2019.

GARCÍA, A. *et al.* Methicillin resistance and biofilm production in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* in México. **Biomedica**. v. 39, n.3, p.513-523, 2019.

GARCÍA-BETANCUR, J. C. *et al.* Update on the epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 19, n. 2, p. 197–213, 2021.

GASTELO ACOSTA, R.; MAGUIÑA VARGAS, C. Mecanismos de resistência bacteriana. **Diagnóstico**, v. 57, n.2, p. 82-86, 2020.

GONÇALVES, G. R. *et al.* Ocorrência e perfil de sensibilidade e resistência de bactérias isoladas de culturas de aspirados traqueais de um Hospital Universitário do Sertão de Pernambuco. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 14, pág. e23101421550, 2021.

ISRAEL, L. F. *et al.* Produção de biofilme por *Staphylococcus chromogenes* isolados de amostras de leite provenientes de rebanhos bovinos com mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 1943-1949, 2018.

KIM, M. *et al.* Widely used benzalkonium chloride disinfectants can promote antibiotic resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 17, p. 1-37, 2018.

LEITE, A. E. *et al.* Produção de biofilme por *Staphylococcus* coagulase negativa isolados de queijos e equipamentos. **Hig. alim.**, v. 33, n. 288, p. 2013-2017, 2019.

MACIEL, M. J.; MACHADO, G.; AVANCINI, C. A. Investigação da resistência a antibióticos e a desinfetantes de *Salmonella* spp. isoladas em produtos e matéria-prima de origem animal (suínos e aves). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 20, p. e0162019, 2019.

MOBASSERI, G. *et al.* Caracterização molecular de *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase e multirresistente e de espectro estendido isolado de granjas de suínos na Malásia. **Microbial Drug Resistance**, v. 25, n.7, p.1087-1098, 2019.

MOJICA, M. F. *et al.* A necessidade urgente de inibidores de metalo- β -lactamase: uma ameaça global autônoma. **A Lanceta. Doenças infecciosas**, v. 22, n.1, p. e28–e34, 2022.

PEDROSO, S. H. **Fatores de virulência e resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus coagulase-negativo* isolados de pacientes com infecção na corrente sanguínea.** 2018. Tese de doutorado (Programa de pós-graduação em microbiologia) -Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

RARO, O. *et al.* Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* From Transplanted Patients in Brazil: Phylogeny, Resistome, Virulome and Mobile Genetic Elements Harboring *blaKPC-2* or *blaNDM-1*. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p.1563, 2020.

ROY, R. *et al.* Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, v. 9, p. 522–554, 2018.

SALES, L. C. **Adequação de manual de boas práticas de fabricação, POP'S E PPHO'S e capacitação de manipuladores em Laticínio.** 2020. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Fundação Universidade Federal de Rondônia, Ariquemes, 2020.

SÁNCHEZ-GARCÍA, J. M. *et al.* Evolución de la resistencia a antibióticos de microorganismos causantes de infecciones del tracto urinario: un estudio de vigilancia epidemiológica de 4 años en población hospitalaria. **Revista Clínica Española**, v. 219, n. 3, p. 116-123, 2019.

SANTANA, J. A. *et al.* Isolamento e resistência aos antimicrobianos de estafilococos coagulase negativos recuperados de jabutis saudáveis em Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v. 52, n.7, 2022.

SANTOS, I. C. *et al.* Eficácia in vitro de desinfetantes utilizados no pré-dipping frente a amostras de *Staphylococcus* spp. **Jornal Interdisciplinar de Biociências**, v. 3, n.1, p. 4, 2018.

SANTOS, R. DE O. **Perfil de resistência de Staphylococcus coagulase negativa isoladas de queijos coalho comercializados no município de Lagarto-SE**. 2018. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2018.

SILVA, D. D. *et al.* Eficácia in vitro do iodo no pré e pós dipping frente a *Staphylococcus coagulase negativa* isolados em leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência rural**, v. 51, n.4, p. 3, 2021.

SILVA, M. V. *et al.* Dinâmica da carga microbiana de uma unidade de beneficiamento de carne e produtos cárneos. **Ars Veterinaria**, v. 36, n. 2, p. 72-77, 2020.

SILVA, N. B. **Análise da produção de biofilme por bactérias isoladas em uma unidade neonatal**. 2019. 43 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

SOARES, G. *et al.* In vitro antimicrobial activity of essential oils from *Heterothalamus* Less. (Asteraceae) against clinically relevant bacterial and fungal species. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 1, 2016.

SOARES, M. V. **Análise microbiológica associada à avaliação da condição de biossegurança em sala de tomografia computadorizada em um hospital privado em Teresina - PI e em uma unidade de saúde pública em Timon - MA**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Radiologia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Teresina, 2018.

SOUSA, A. T. *et al.* Perfil de resistência antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de animais domésticos e silvestres. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 2, p. 584-593, 2019.

TAVARES, Walter. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico/Walter Tavares**. – 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2014.

TOIGO, L. *et al.* Atividade Antimicrobiana do Álcool em Gel. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 49558-49571, 2020.

VERÍSSIMO, G. S.; SOUZA, I. B.; RISTOW, P. C. Biofilme: mecanismo de virulência bacteriana. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 3, p. 91-91, 2021.

VOLKART, P. A.; SPAGIARI, M. S.; BIZANI, D. Avaliação da susceptibilidade e resistência bacteriana aos agentes controladores do crescimento de uso hospitalar e industrial. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 21, n. 1, 2017.

STEPANOVIĆ, S. *et al.* Formação de biofilme por *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em superfície de plástico. **Cartas em microbiologia aplicada**, v. 38, n. 5, pág. 428-432, 2004.

WANG, G. *et al.* The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **Int J Environ Res Public Health**. v. 17, n. 17, p. 6278, 2020.

WYRES, K. L.; LAM, M. M.; HOLT, K. E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. **Nat Rev Microbiol**. v. 18, n. 6, p. 344-359, 2020.

ZHANG, Z. *et al.* Caracterização de genes beta-lactamase de espectro estendido não expressos em isolados de *Klebsiella pneumoniae* sensíveis a antibióticos. **Resistência a drogas microbianas**, v. 24, n.6, p. 799-806, 2018.