



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JAINE DOCHVAT IRENO

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE QUEIJOS
COLONIAIS SEM ROTULAGEM

REALEZA

2024

JAINE DOCHVAT IRENO

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE QUEIJOS
COLONIAIS SEM ROTULAGEM**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karina Ramirez Starikoff

REALEZA

2024

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Ireno, Jaine Dochvat

Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de
queijos coloniais sem rotulagem / Jaine Dochvat Ireno.
-- 2024.

31 f.

Orientadora: Dr.^a Karina Ramirez Starikoff

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2024.

1. microbiologia de alimentos. 2. Staphylococcus
aureus. 3. Escherichia coli. 4. queijo colonial
artesanal. 5. saúde pública. I. Starikoff, Karina
Ramirez, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

JAINÉ DOCHVAT IRENO

**RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE QUEIJOS
COLONIAIS SEM ROTULAGEM**

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

Este trabalho de conclusão foi defendido e aprovado pela banca em 25/10/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **KARINA RAMIREZ STARIKOFF**
Data: 31/10/2024 18:58:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **IUCIF ABRÃO NASCIF JÚNIOR**
Data: 31/10/2024 18:30:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Iucif Abrão Nascif Júnior - UFFS
Avaliador

Documento assinado digitalmente
 **ADALGIZA PINTO NETO**
Data: 05/11/2024 10:19:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Adalgiza Pinto Neto - UFFS
Docente Responsável pelo CCR TCC II - Defesa

Aos meus avós João e Maria, que partiram durante esta minha trajetória sem que eu conseguisse me despedir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida e por ter colocado este sonho no meu coração, que agora está perto de ser realizado. Aos meus pais que, apesar de não terem tido as mesmas oportunidades que eu tive, sempre me incentivaram e me mostraram a importância da educação. À minha irmã Janaína, que tantas vezes foi a razão para que eu continuasse. À minha filha Isadora que, ainda em meu ventre, me motiva todos os dias a ser alguém melhor. Ao meu companheiro Rafael, por todo apoio e paciência. Às minhas amigas Larissa, Juliana, Bruna, Xaiane e Maria, por estarem comigo nos melhores e piores momentos.

À minha orientadora, professora Karina, por todo o cuidado, disposição e dedicação para realização deste trabalho, e também pelos conselhos. Aos membros da banca avaliadora, professor Lucif e Luiza, por despenderem seu tempo para avaliação deste trabalho. A todos os professores que tive durante a graduação, por terem compartilhado tanto conhecimento. Aos amigos que fiz e às pessoas que convivi nesses últimos anos, que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui. Às adversidades que enfrentei, pelos aprendizados e por terem me tornado mais forte.

RESUMO

O comércio informal de produtos de origem animal representa relevante impacto para a saúde pública, uma vez que os alimentos podem albergar microrganismos transmissores de doenças. O queijo Colonial é um dos produtos mais consumidos pela população do Sudoeste Paranaense. Considerado como um produto artesanal, é tradicionalmente fabricado com leite cru e comercializado após poucos dias de maturação. *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* são os principais contaminantes de queijos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resistência antimicrobiana de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de queijos tipo Colonial artesanais, comercializados nas cidades do Sudoeste Paranaense. A partir da coleta de sete amostras de queijo sem rotulagem, foram isoladas oito cepas de *S. aureus* e duas cepas de *E. coli*. Em seguida, as cepas foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana pela técnica de disco difusão. Foram testados os seguintes antimicrobianos: Penicilina G 10µg, Ampicilina 10µg, Eritromicina 15µg, Cefoxitina 30µg, Oxacilina 1µg, Tetraciclina 30µg, Norfloxacin 10µg, Ciprofloxacina 5µg, Cloranfenicol 30µg, Gentamicina 10µg, Amoxicilina com ácido clavulânico 20/10µg e Clindamicina 2µg. Observou-se que um total de 50% das cepas de *S. aureus* demonstraram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, sendo a maior resistência à Penicilina G (75%), Ampicilina (75%) e Tetraciclina (62,5%). Também, 100% das cepas apresentaram sensibilidade satisfatória à Cefoxitina, Cloranfenicol, Gentamicina e Amoxicilina combinada com ácido clavulânico, ambos com nenhum isolado resistente. As cepas de *E. coli* apresentaram resistência a todos os antimicrobianos testados, exceto à Norfloxacin, em que se demonstraram 100% sensíveis. Os resultados obtidos neste estudo demonstram a importância da inspeção dos alimentos de origem animal e da capacitação dos produtores, com o emprego de Boas Práticas de Fabricação. Ademais, deve-se considerar o uso racional de antimicrobianos na produção animal, devido ao potencial risco para a saúde pública local pela transferência de genes de resistência que ocorre entre as bactérias.

Palavras-chave: microbiologia de alimentos. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. queijo colonial artesanal. saúde pública.

ABSTRACT

The informal trade of animal-derived products has a significant impact on public health, as these foods can harbor microorganisms that transmit diseases. Colonial cheese is one of the most consumed products by the population of southwestern Paraná. Considered an artisanal product, it is traditionally made with raw milk and sold after a few days of maturation. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are the main contaminants of cheeses. The objective of the present study was to evaluate the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria isolated from unlabeled artisanal Colonial cheeses sold in cities in southwestern Paraná. From the collection of seven cheese samples, eight strains of *S. aureus* and two strains of *E. coli* were isolated. The strains were then subjected to antimicrobial susceptibility testing using the disk diffusion technique. The following antimicrobials were tested: Penicillin G 10 µg, Ampicillin 10 µg, Erythromycin 15 µg, Cefoxitin 30 µg, Oxacillin 1 µg, Tetracycline 30 µg, Norfloxacin 10 µg, Ciprofloxacin 5 µg, Chloramphenicol 30 µg, Gentamicin 10 µg, Amoxicillin with clavulanic acid 20/10 µg, and Clindamycin 2 µg. It was observed that a total of 50% of the *S. aureus* strains demonstrated resistance to at least one of the tested antimicrobials, with the highest resistance observed for Penicillin G (75%), Ampicillin (75%), and Tetracycline (62.5%). Additionally, 100% of the strains showed satisfactory sensitivity to Cefoxitin, Chloramphenicol, Gentamicin, and Amoxicillin combined with clavulanic acid, with no resistant isolates. The *E. coli* strains showed resistance to all tested antimicrobials, except for Norfloxacin, to which they were 100% sensitive. The results obtained in this study highlight the importance of inspecting animal-derived foods and training producers in Good Manufacturing Practices. Moreover, rational use of antimicrobials in animal production should be considered, given the potential risk to local public health due to the transfer of resistance genes that occurs among bacteria.

Keywords: food microbiology. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. artisanal colonial cheese. public health.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO DE LITERATURA	9
3	MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1	COLETA DAS AMOSTRAS DOS QUEIJOS E DOS MICRORGANISMOS UTILIZADOS.....	13
3.2	PERFIL DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5	CONCLUSÃO.....	20
6	REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

O queijo Colonial é um tipo de queijo tradicional produzido de forma manual por pequenos produtores, geralmente em propriedades rurais ou pequenas queijarias. É um dos queijos mais consumidos pela população do Sudoeste Paranaense, fazendo parte da cultura local. O queijo Colonial é considerado um produto artesanal, sendo produzido com leite cru e comercializado após poucos dias de maturação (Cislaghi; Badaró, 2021).

Além de ser uma fonte de renda para os produtores, o consumo deste tipo de queijo simboliza a valorização da agricultura familiar e dos conhecimentos tradicionais. Representa a cultura e a tradição, associadas ao saber-fazer dos agricultores, ao seu estilo de vida e às suas maneiras particulares de ocupar o território e de praticar a agricultura, características que são apreciadas pelos consumidores (Dorigon, 2008).

Por atrair consumidores que valorizam os traços regionais, os produtores rurais na tentativa de gerar renda extra visando esse mercado, acabam produzindo o queijo de maneira informal, sem inspeção sanitária e, na maioria das vezes, sem o conhecimento das Boas Práticas de Fabricação (BPF). Dessa forma, esses alimentos podem carrear patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (Tavares *et al.*, 2019).

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli* são os contaminantes mais comuns nos queijos artesanais. Os queijos podem ser contaminados por *Staphylococcus aureus* devido à falta de higiene por parte do ordenhador ou manipulador durante a fabricação, condições inadequadas de limpeza e sanitização dos equipamentos, ou erros no armazenamento do leite. A presença de *S. aureus* também pode decorrer de excreções associadas à mastite (Cislaghi; Badaró, 2021). Por possuir cepas que produzem enterotoxinas, a ingestão de *S. aureus* pode causar intoxicação alimentar (Silva, 2023).

Escherichia coli é um coliforme termotolerante que fermenta a lactose em temperatura de 44,5 a 45,5°C e produz gás carbônico, resultando em bolhas irregulares no queijo. A presença desse microrganismo é associada a contaminação direta ou indireta por fezes humanas ou animais, indicando más condições higiênico sanitárias em alguma etapa da produção. A utilização de água não potável também contribui para a contaminação dos queijos (Silva, 2023).

A resistência a antimicrobianos é considerada atualmente como um dos maiores problemas mundiais de saúde pública (Silva *et al.*, 2020). No Brasil, buscando limitar o avanço desse problema e evitar a exposição dos consumidores a substâncias químicas como os

antibióticos, foi implantado o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNRC) (Brasil, 2017). Entretanto, se tratando dos produtos não inspecionados, esse controle torna-se limitado (Tavares *et al.*, 2019). Além disso, de acordo com Silva (2023), microrganismos resistentes podem transferir genes de resistência para microrganismos do trato gastrointestinal e da microbiota humana, o que limita protocolos terapêuticos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resistência antimicrobiana de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de queijos tipo Colonial artesanais comercializados no Sudoeste do Paraná.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O mercado de queijos no país tem demonstrado constante expansão. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ), em 2021 o Brasil produziu 818 mil toneladas de queijo inspecionado. Atualmente, o consumo médio *per capita* é de 5,6 kg de queijo ao ano, o que expressa maior potencial de crescimento. A demanda por queijos tradicionais e regionais está integrada a esse mercado, que abrange os meios formais e informais de produção, gerando, assim, a necessidade de regulamentação específica (Ambrosini *et al*; 2020).

O queijo Colonial é um dos produtos artesanais mais presentes na mesa da população do Sudoeste do Paraná (Pastro *et al*; 2020). Além de representar importância econômica, o queijo Colonial é produzido por métodos tradicionais pelos produtores sob influências sociais, culturais e regionais. Esses aspectos não apenas despertam o interesse dos consumidores, mas também dificultam a conscientização sobre a importância de escolher a procedência do produto (Kamimura *et al*; 2019).

A produção do queijo Colonial dificilmente segue um padrão entre os produtores. Além disso, o uso do leite *in natura*, que nem sempre é de boa qualidade, e a falta da implementação de BPFs, compromete a qualidade higiênico-sanitária do produto. Isso pode resultar na contaminação por bactérias e coliformes, expondo a saúde do consumidor a riscos (Lucas *et al.*, 2012).

A legislação brasileira autoriza a utilização do leite *in natura* na fabricação de queijos desde que haja maturação de, no mínimo, 60 dias, sob temperatura superior a 5°C. Entretanto, esse período pode ser inferior se houver comprovação da inocuidade do produto, baseada na qualidade da matéria-prima (Brasil, 2020). Outras exigências quanto à adequação da estrutura física do local de produção, a fim de atender os padrões higiênicos-sanitários, são necessárias para a fabricação e comercialização de alimentos. Devido ao investimento exigido para cumprir esses requisitos, à falta de incentivo do governo local e à escassa fiscalização por órgãos oficiais, muitos produtores permanecem na informalidade.

A segurança dos alimentos é de suma importância para a saúde pública. Os queijos podem ser considerados veículos de patógenos de origem alimentar, especialmente os queijos frescos artesanais, devido a utilização do leite cru e ao tempo de maturação insuficiente (Silva, 2020).

De acordo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, entre os anos de 2014 e 2023, 110.614 pessoas adoeceram, 12.346 foram hospitalizadas e 121 entraram em óbito após a ingestão de alimentos ou água contaminada (Brasil, 2024). Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), a região Sul ocupa o segundo lugar no *ranking* nacional das regiões com maiores índices de surtos de DTAs (Melo *et al.*; 2018). O consumo de leite e derivados é o quarto maior causador dos casos. Entre os principais agentes envolvidos nos surtos de DTAs destacam-se os contaminantes mais comuns de leite e queijos: *Escherichia coli*, representando 34,8% dos casos e *Staphylococcus aureus*, representando 9,7% (Brasil, 2024).

Diversos estudos envolvendo análises microbiológicas de queijos artesanais indicam contagens bacterianas superiores aos limites permitidos pela legislação Instrução Normativa nº 60/2019, caracterizando-os como impróprios para consumo. Casaril *et al.* (2017) e Silva *et al.* (2020), analisaram 20 amostras de queijos Coloniais comercializados por feirantes do Rio Grande do Sul e Paraná, onde 45% das amostras apresentaram elevada contaminação por *E. coli* e 60% por *S. aureus*, além da presença de *Salmonella*.

Tavares *et al.* (2019) analisaram 30 amostras de queijo artesanal e concluíram que 86,66% estavam fora dos padrões exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A alta incidência de *S. aureus* encontrada por Oliveira *et al.* (2019) em queijos artesanais também caracterizou a qualidade microbiológica dos queijos como insatisfatória, comprometendo a segurança do alimento. Além disso, Bomfim *et al.* (2020) identificaram que 75% dos queijos de feiras livres são mantidos sob temperaturas inadequadas durante a comercialização.

A resistência antimicrobiana é outro problema de saúde pública que envolve alimentos, pois estes podem participar ativamente da disseminação de cepas resistentes. O uso indiscriminado de antimicrobianos na produção animal leva à seleção de genes que podem ser transferidos para bactérias comensais no trato digestório humano ou para enteropatógenos. Isso gera uma pressão seletiva que favorece a sobrevivência e a propagação dessas bactérias resistentes através da cadeia alimentar (Brasil, 2012).

A presença de cepas de *S. aureus* e *E. coli* isoladas de alimentos, que são resistentes a agentes antimicrobianos, tem sido objeto de diversos estudos. Apesar de ser comumente encontrado na microbiota do corpo humano, o *Staphylococcus aureus* é uma das bactérias patogênicas mais importantes, devido à presença de fatores de virulência que causam diversas infecções e à sua capacidade de resistência.

Um dos principais mecanismos de virulência associados às cepas de *S. aureus* é a capacidade de burlar a fagocitose no sistema imunológico do hospedeiro. As cepas podem formar uma cápsula extracelular de polissacarídeos e liberar a proteína A, que impede a interação dos anticorpos com as células fagocitárias. Já a resistência do *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos pode ser causada pela formação de biofilme, por mutações em seus genes e/ou pela aquisição de genes de resistência de outras bactérias. Em geral, a resistência por mutação resulta em mudanças nas proteínas-alvo do antimicrobiano, enquanto a resistência adquirida frequentemente envolve a destruição ou inativação do próprio antimicrobiano. A produção de enzimas como a beta-lactamase, que degrada penicilinas e cefalosporinas, também é outro fator que inativa os antimicrobianos (Souza, 2012; Cussolim *et al*; 2021).

Devido aos elevados índices de contaminação por *S. aureus* em queijos, Rodrigues (2021), ao analisar amostras de queijo minas frescal artesanal, constatou que 83% das cepas de *S. aureus* estudadas apresentavam resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados.

Aguiar (2022), ao avaliar a presença de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em 112 amostras de queijo de coalho, identificou a presença de diferentes genes de resistência: *mecA*, principal responsável pela resistência à meticilina, e *blaZ*, que confere resistência à penicilina, além de genes codificadores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico, responsáveis pelo aumento da virulência do microrganismo.

Outros genes conferem resistência de *S. aureus* aos antimicrobianos e podem influenciar sua virulência. O gene *erm* confere resistência a macrolídeos, como o eritromicina, ao modificar o alvo do antimicrobiano (Silva *et al.*, 2013). Já o gene *tet(K)* confere resistência a tetraciclina, permitindo que as cepas sobrevivam a esse grupo de antimicrobianos (Monecke *et al.*, 2011).

Escherichia coli pertence à família das enterobactérias e sua presença nos alimentos é comumente utilizada como indicador de contaminação microbiana de origem fecal. Apesar de fazer parte da microbiota intestinal de humanos e animais, algumas estirpes podem causar quadros diarreicos, sendo classificadas como enteropatogênicas, enterotoxigênicas, enteroinvasivas e enterohemorrágicas (Zhang *et al*; 2022).

Cepas de *E. coli* são frequentemente utilizadas para monitorar a resistência antimicrobiana devido à sua ampla diversidade de hospedeiros e à capacidade de adquirir genes de resistência por meio da transferência. Diversos mecanismos possibilitam a transferência de resistência entre bactérias, tanto da mesma espécie quanto entre espécies diferentes. Essa troca de genes é realizada por elementos como plasmídeos, sequências de inserção, integrons, transposons e bacteriófagos, que promovem a recombinação genética, unindo elementos

genéticos de origens distintas em uma única unidade. Esse processo ocorre através de três mecanismos: transformação, transdução e conjugação (Sánchez *et al*; 2012).

Várias pesquisas envolvendo cepas de *E. coli* isoladas de queijos já apresentam elevados índices de resistência antimicrobiana diante dos principais agentes disponíveis. Souza (2019), ao avaliar amostras de queijo Minas artesanal, isolou cepas de *E. coli* em 35% das amostras, sendo todas estas resistentes à gentamicina, além de apresentarem elevada resistência contra ciprofloxacina e ampicilina e resistência considerável contra amoxicilina e tetraciclina. Cardoso e Marin (2014), ao analisarem 147 cepas isoladas de *E. coli* oriundas de queijo tipo muçarela artesanal, relataram que 52,4% das cepas demonstraram resistência à tetraciclina. Ainda, 60% das cepas apresentaram resistência a pelo menos um dos doze antimicrobianos testados, o que constituiu uma preocupação significativa devido ao risco de disseminação de genes de resistência antimicrobiana para a microbiota humana.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS DOS QUEIJOS E DOS MICRORGANISMOS UTILIZADOS

Foram coletadas sete amostras de queijo Colonial de fabricação artesanal e sem rótulo, comercializados em feiras nos municípios do Sudoeste Paranaense, no período de maio a setembro de 2024. Após a coleta, as amostras foram imediatamente refrigeradas e encaminhadas ao laboratório de Apoio de Biologia, localizado no terceiro bloco de laboratórios do *Campus Realeza*, da Universidade Federal da Fronteira Sul, num período máximo de 24 horas.

As técnicas para análise microbiológica dos queijos foram realizadas conforme Silva *et al.* (2017). Para tanto, vinte e cinco gramas de cada queijo foram retiradas de porções do interior do alimento para compor a unidade analítica da amostra. Que, em seguida, foram adicionadas em 225 mL de água peptonada e agitadas para homogeneização, e assim obtendo-se a primeira diluição (10^{-1}). Depois transferiu-se 1 mL para tubos com 9 mL de água peptonada e foram obtidas as demais diluições até 10^{-6} .

Da diluição 10^{-3} pipetou-se 0,5 mL em Ágar Sal Manitol (Kasvi[®]) para pesquisa de *Staphylococcus spp.* que foi incubada a 37°C por 48 horas. Também foi feita análise de coliformes termotolerantes, pelo método do Número Mais Provável (NMP), assim os tubos que turvaram e produziram gás em caldo *Escherichia coli* (Kasvi[®]), do modo que alíquotas foram semeadas em Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) (Ion[®]). Para confirmação e diferenciação dos microrganismos, utilizou-se o Ágar Cromogênico (Laborclin[®]).

Foram isolados oito cepas de *Staphylococcus aureus* e duas cepas de *Escherichia coli* que foram ressuspensos em 5mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (Kasvi[®]) a 37°C durante 24 horas. Posteriormente esses microrganismos foram transferidos para tubos contendo 10 mL de solução salina 0,9 % estéril e submetidos a leitura em espectrofotômetro *Thermo Scientific Evolution 201 Uv-Vis*, considerados padronizados quando as absorbâncias estivessem entre 0,08 - 0,13 Ångstrom em comprimento de onda de 625 nm, o que corresponde a $1,2 \times 10^8$ UFC/mL.

3.2 PERFIL DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

O perfil de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado conforme as recomendações da normativa M02-A11 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*, que descreve a Padronização dos Testes de sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão (CLSI, 2012). Para tanto, um *swab* estéril foi mergulhado em cada tubo contendo inóculo, previamente padronizado, e pressionado algumas vezes na parede do tubo, a fim de eliminar o excesso de líquido. Em seguida, o *swab* úmido foi friccionado de forma suave em toda a superfície de uma placa de ágar Mueller-Hinton (AMH) 15 x 16 mm (Newprov[®]). Esse procedimento foi efetuado por mais duas vezes e, em cada vez, a placa foi girada em 60° para garantir que toda superfície estivesse recoberta pelo inóculo. A pesquisa foi realizada em duplicata, dessa forma, cada inóculo foi semeado em duas placas, totalizando 20 placas. Doze discos de antibióticos foram posicionados equidistantemente (aproximadamente 2 cm de distância entre um disco e outro) sobre a superfície inoculada da placa de AMH com o auxílio de pinças estéreis, de forma a facilitar a visualização dos halos de inibição.

Os antimicrobianos testados foram: Penicilina G 10 µg (PEN), Ampicilina 10 µg (AMP), Eritromicina 15 µg (ERI), Cefoxitina 30 µg (CFO), Oxacilina 1 µg (OXA), Tetraciclina 30 µg (TET), Norfloxacin 10 µg (NOR), Ciprofloxacina 5 µg (CIP), Cloranfenicol 30 µg (CLO) e Gentamicina 10 µg (GEN) da Laborclin[®]; além de Amoxicilina com ácido clavulânico 20/10 µg (AMC) e Clindamicina 2 µg (CLI) da Cefar[®].

Após o posicionamento dos discos, cada placa foi identificada com o número da cepa utilizada no teste e mantida em estufa a 35 °C durante 24 horas. Os halos de inibição foram medidos com paquímetro digital (Vonder[®]). Com base nas comparações entre as medidas dos halos de inibição das duplicatas, foi obtida uma média e, posteriormente, foi realizada a avaliação e interpretação dos resultados, considerando os pontos de corte para cada microrganismo e antimicrobiano testado. De acordo com a medida do halo de inibição, cada cepa foi classificada como Sensível (S), Intermediário (I) ou Resistente (R) ao antimicrobiano testado, considerando as medidas e classificações indicadas nas normativas M100-S15 (CLSI, 2005), M02, M07 e M100 (CLSI, 2024). Padrões resistentes ou intermediários foram somados, uma vez que padrões intermediários já indicam o surgimento de algum grau de insensibilidade ao antimicrobiano testado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de perfil de sensibilidade antimicrobiana estão apresentados na Tabela 1.

O perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas de *S. aureus* isoladas dos queijos mostrou maior resistência frente às penicilinas (Penicilina G e Ampicilina, ambos 75%) e Tetraciclina (62,5%). Os princípios ativos que demonstraram maior eficácia contra os isolados foram: Cefoxitina, Cloranfenicol, Gentamicina e Amoxicilina combinada com ácido clavulânico, ambos com nenhum isolado resistente.

Considerando a soma dos padrões intermediários e resistentes, observou-se que 50% dos isolados apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados. As cepas de *S. aureus* apresentaram elevada resistência em relação às penicilinas G e Ampicilina, com uma taxa de resistência de 75%.

Grando *et al.* (2009) relataram índice de resistência à Penicilina G similar (78,95%), ao isolar cepas de *S. aureus* de manipuladores de laticínios. Tavares *et al.* (2019), também observaram elevado índice de resistência às penicilinas em cepas de *S. aureus* isolados de queijo colonial artesanal. Os autores relataram que 100% dos isolados eram resistentes à Penicilina G, 86,95% à Oxacilina e 78% à Ampicilina, sendo o último resultado semelhante ao obtido neste estudo.

As penicilinas compõem a classe de antimicrobianos beta-lactâmicos e possuem ação bactericida, inibindo a síntese de peptidoglicano da parede celular bacteriana. Apresentam amplo espectro de ação e margem terapêutica, agindo contra diversos bacilos e bactérias Gram positivos e negativos, o que contribui para seu uso indiscriminado (Arruda *et al.*; 2019). A resistência às penicilinas está comumente associada à alterações da proteína alvo de ação do antimicrobiano ou a produção de beta-lactamases, enzimas inativadoras que agem diretamente no anel betalactâmico, causando hidrólise e inativação do mesmo (Castro, 2019).

A Oxacilina é uma penicilina resistente às beta-lactamases. A resistência a esse antimicrobiano foi identificada em 50% das cepas de *S. aureus* do presente estudo, considerando a soma dos padrões resistente e intermediário. Para *S. aureus*, comumente se testa Oxacilina e/ou Cefoxitina com discos para avaliar a presença de MRSA (*Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente), uma vez que os testes são comparáveis entre si. Entretanto, o presente estudo demonstrou 100% de sensibilidade das cepas à Cefoxitina e considerável resistência à Oxacilina, diferindo dos altos índices de resistência para ambos agentes antimicrobianos -

Tabela 1 - Perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas isoladas de queijos coloniais comercializados no Sudoeste Paranaense (média, desvio padrão dos halos de inibição e classificação como Resistente (R), Intermediário (I) ou Sensível (S)). Set 2024.													
Halos de inibição (mm) por antimicrobiano													
Amostras	PEN 10µg	AMP 10µg	ERI 15µg	CFO 30µg	OXA 1µg	TET 30µg	NOR 0µg	CIP 5µg	CLO 30µg	GEN 10µg	AMC 20+10µg	CLI 2µg	
1 <i>Staphylococcus sp.</i>	21 ± 1,3	25 ± 7,9	22 ± 3,0	33 ± 1,2	18 ± 11,4	24 ± 1,1	31 ± 6,2	27 ± 6,2	22 ± 0,81	18 ± 1,0	39 ± 2,6	23 ± 3,4	
Classificação	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2 <i>Staphylococcus sp.</i>	21 ± 2,4	23 ± 2,3	25 ± 0,88	23 ± 0,52	13 ± 6,3	28 ± 0,74	28 ± 1,4	28 ± 1,5	24 ± 2,2	20 ± 2,5	28 ± 3,5	22 ± 2,9	
Classificação	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
3 <i>Staphylococcus sp.</i>	22 ± 0,12	23 ± 0,06	24 ± 0,01	23 ± 0,88	10 ± 1,2	24 ± 3,1	25 ± 0,71	27 ± 0,85	27 ± 1,3	20 ± 0,14	30 ± 0,23	19 ± 0,58	
Classificação	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I	
4 <i>Staphylococcus sp.</i>	22 ± 2,7	24 ± 1,9	24 ± 3,8	25 ± 0,17	12 ± 0,4	08 ± 0,59	24 ± 2,8	26 ± 0,91	25 ± 0,08	21 ± 3,5	25 ± 12,9	20 ± 2,5	
Classificação	R	R	S	S	I	R	S	S	S	S	S	I	
5 <i>Staphylococcus sp.</i>	29 ± 1,1	31± 0,18	29 ± 0,47	29 ± 2,7	17 ± 0,89	07 ± 0,78	30 ± 0,58	28 ± 0,28	28 ± 1,9	19 ± 1,2	40 ± 0,48	22 ± 0,69	
Classificação	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
6 <i>Staphylococcus sp.</i>	36 ± 1,5	34 ± 0,72	23 ± 0,79	29 ± 3,7	21 ± 1,0	07 ± 2,1	23 ± 2,0	25 ± 1,3	23 ± 3,3	17 ± 0,58	37 ± 3,5	23 ± 1,8	
Classificação	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
7 <i>Staphylococcus sp.</i>	20 ± 0,48	24 ± 0,6	17 ± 7,3	23 ± 3,2	11 ± 1,3	06 ± 3,0	14 ± 0,25	16 ± 1,7	26 ± 1,0	18 ± 3,1	31 ± 1,6	20 ± 2,1	
Classificação	R	R	I	S	I	R	I	I	S	S	S	I	
8 <i>Staphylococcus sp.</i>	20 ± 0,6	23 ± 0,9	24 ± 0,69	25 ± 1,0	12 ± 1,7	01 ± 0,01	24 ± 1,5	27 ± 0,69	25 ± 3,2	23 ± 1,5	30 ± 0,04	20 ± 4,4	
Classificação	R	R	S	S	I	R	S	S	S	S	S	I	
Classificação (%)	(R)75 (I)0 (S)25	(R)75 (I)0 (S)25	(R)0 (I)25 (S)75	(R)0 (I)0 (S)100	(R)12,5 (I)37,5 (S)50	(R)62,5 (I)0 (S)37,5	(R)0 (I)12,5 (S)87,5	(R)0 (I)12,5 (S)87,5	(R)0 (I)0 (S)100	(R)0 (I)0 (S)100	(R)0 (I)0 (S)100	(R)0 (I)50 (S)50	
9 <i>Enterobacteriaceae</i>	0 ± 0,0	0 ± 0,0	11 ± 0,68	19 ± 0,35	0 ± 0,0	0 ± 0,0	20 ± 1,0	21 ± 0,89	22 ± 0,93	15 ± 1,3	14 ± 1,7	0 ± 0,0	
Classificação	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	I	R	
10 <i>Escherichia coli</i>	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	09 ± 0,42	31 ± 2,1	35 ± 1,4	13 ± 1,6	22 ± 0,76	0 ± 0,0	0 ± 0,0	
Classificação	R	R	R	R	R	R	S	S	I	S	R	R	
Classificação (%)	(R)100 (I)0 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	(R)0 (I)0 (S)100	(R)50 (I)0 (S)50	(R)50 (I)50 (S)0	(R)50 (I)0 (S)50	(R)50 (I)50 (S)0	(R)100 (I)0 (S)0	
Fonte: Autoria própria (2024).													

Fonte: Autoria própria (2024).

crobianos relatados por Tavares *et al.* Dessa forma, segundo Silva (2023), cepas de *S. aureus* que demonstram resistência às meticilinas podem ser consideradas resistentes a qualquer beta-lactâmico.

A Tetraciclina é um bacteriostático de amplo espectro que age em microrganismos Gram-positivos e negativos e determinados anaeróbios. Seu mecanismo de ação consiste na inibição da síntese proteica bacteriana, pela forma que se ligam a um sítio da subunidade 30S do ribossomo bacteriano, impedindo as ligações de aminoácidos. A resistência às tetraciclinas já tem limitado o uso dessas substâncias em humanos e está associada a mecanismos de efluxo do antimicrobiano e proteção ribossomal (Pereira-Maia *et al.*; 2010). Em relação à Tetraciclina, 62,5% das cepas apresentaram resistência ao antimicrobiano neste estudo, similar ao resultado obtido por Tavares *et al.*, que relatou resistência de 65%.

As cepas demonstraram sensibilidade considerável em relação aos agentes Eritromicina (75%), Norfloxacin e Ciprofloxacina (ambos 87,5%). Quanto à Clindamicina, as cepas se apresentaram 50% sensíveis e intermediárias contra o agente, o que já evidencia resistência.

As cepas de *S. aureus* apresentaram sensibilidade satisfatória (100%) em relação a Gentamicina, Amoxicilina combinada com ácido clavulânico e ao Cloranfenicol. A Gentamicina é um aminoglicosídeo de ação bactericida que age inibindo a síntese proteica. Kurosawa *et al.* (2020), observaram sensibilidade à Gentamicina próxima (96,55%) em cepas isoladas de leite *in natura*. Tavares *et al.* (2019) também relataram sensibilidade satisfatória (95%). Entretanto, Silva (2023), em seu estudo com isolados de queijo coalho artesanal, classificou 66% das cepas como resistentes e 16% como intermediárias em relação ao antimicrobiano, restringindo seu uso terapêutico.

A amoxicilina é uma penicilina que, juntamente com o ácido clavulânico, tem seu efeito potencializado por inibir a beta-lactamase. Sua alta eficácia já foi relatada por Moroni *et al.* (2006) em um estudo com leite *in natura* e indica uma boa opção contra as cepas de *S. aureus* até os dias atuais. Almeida (2023), também relatou eficácia satisfatória deste antimicrobiano frente às cepas de *S. aureus* isoladas de queijos fabricados com leite cru.

O Cloranfenicol é um bacteriostático de amplo espectro que inibe a síntese proteica através da sua ligação com a subunidade 50S do ribossomo bacteriano. Bomfim *et al.* (2020), em sua pesquisa com isolados de queijo coalho artesanal, relatou o mesmo resultado obtido neste trabalho. Rodrigues (2021) e Silva (2023), encontraram resultados semelhantes em isolados de queijos coalho artesanais, sendo 93% e 94% das cepas sensíveis, respectivamente. Dessa forma, dentre os antimicrobianos que mais se mostraram efetivos neste estudo, destaca-se o Cloranfenicol, com maiores índices de eficácia também relatados na literatura.

O perfil de sensibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* isoladas dos queijos mostrou resistência frente a todos ou a pelo menos um dos antimicrobianos testados, com exceção a Norfloxacin, considerando a soma dos padrões intermediário e resistente.

No presente estudo, 100% das cepas apresentaram resistência direta à Penicilina G, Ampicilina, Eritromicina, Cefoxitina, Oxacilina, Tetraciclina e Clindamicina. Wang *et al.* (2020), ao avaliarem isolados de *E. coli* de amostras de leite *in natura* na China, obtiveram resultado semelhante em relação à Penicilina G, o que corrobora com a ideia de que a resistência a este antimicrobiano também ocorre em outros lugares do mundo.

Bomfim *et al.* (2020) encontraram resultados opostos em relação a ação da Ampicilina contra as cepas de *E. coli*, uma vez que 100% das cepas apresentaram suscetibilidade frente ao agente. Diversos estudos semelhantes aos de Pires *et al.* (2019) e Ribeiro (2013) abordam a variedade de genes de resistência entre os microrganismos oriundos de queijos, bem como seus mecanismos de transferência, o que explica essa variação. Para a Ampicilina, Pires *et al.* (2019) identificaram um ou mais genes, sendo o ESBL apontado como o principal responsável pela transferência de resistência entre as bactérias. Similarmente, Ribeiro (2013) identificou pelo menos dois genes envolvidos na resistência, *bla*TEM e *bla*SHV, em pelo menos 21,9% das cepas.

A resistência à Tetraciclina encontrada no presente estudo foi maior em relação aos achados descritos por outros autores. Souza (2019), relatou resistência ao agente em 64,28% das cepas isoladas de queijo minas artesanal. Resende *et al.* (2021) detectaram 68,9% de resistência em isolados de queijo sem rotulagem. Segundo Silva (2023), 59 genes de resistência de *E. coli* ao agente já foram relatados, sendo eles classificados em *tet* e *otr*. Os genes *tetA* e *tetB* são os fenótipos de maior prevalência e de origem animal (Ribeiro, 2013).

Em relação a resistência das cepas frente aos agentes Eritromicina, Cefoxitina, Oxacilina e Clindamicina, cabe salientar que, estes não são antimicrobianos comumente usados contra *E. coli*, como foi realizado neste estudo, por apresentarem melhor eficácia contra bactérias Gram-positivas. Contudo, ao utilizar Cefoxitina em seu estudo com queijos coloniais artesanais, Marian (2023) relatou menor índice de resistência dos isolados, que demonstraram uma variação de 15 a 18% entre as cepas, diferente do observado neste estudo.

As cepas de *E. coli* também foram consideradas 100% resistentes à Amoxicilina combinada com ácido clavulânico, uma vez que os padrões resistente e intermediário foram somados. Este resultado foi oposto ao relatado por Marian (2023), que observou 100% de cepas sensíveis nos isolados de queijo colonial artesanal. Bomfim *et al.* (2020), também relataram sensibilidade considerável (88,9%) em cepas isoladas de queijos coalho de feiras.

Quanto aos agentes antimicrobianos Ciprofloxacina e Gentamicina, 50% das cepas foram resistentes ou sensíveis. Já quanto ao Cloranfenicol, as cepas foram 50% resistentes ou apresentaram resistência intermediária, em que já se considera a presença de algum grau de resistência. No entanto, Silva (2023) em seu estudo, testou ambos agentes e constatou maiores índices de sensibilidade das cepas de *E. coli*, sendo estes superiores a 50%, além de apresentarem resistência inferior a 13%.

O agente Norfloxacin foi o único a apresentar total eficácia contra as cepas de *E. coli* neste estudo (100%). A Norfloxacin, assim como a Ciprofloxacina, é uma fluorquinolona que compõe o grupo dos antimicrobianos derivados do ácido nalidíxico, que agem inibindo a enzima bacteriana DNA topoisomerase II, impedindo assim a duplicação do DNA e a divisão celular (Machado *et al.* 2009). Os dados obtidos nos estudos de Tochetto *et al.* (2023) e Munaretto (2024) divergem do obtido neste. Ao avaliarem a resistência antimicrobiana de cepas oriundas de queijos coloniais artesanais, os autores observaram que, respectivamente, 20% e 36% das cepas apresentaram resistência ao agente.

5 CONCLUSÃO

Os testes de perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas de queijos coloniais artesanais comercializados nos municípios do Sudoeste Paranaense demonstraram elevadas taxas de resistência dos isolados de *S. aureus*, sendo as maiores em relação à Penicilina G e Ampicilina (75%) e à Tetraciclina (62,5%). As cepas de *E. coli* apresentaram resistência a todos os antimicrobianos testados, exceto à Norfloxacin.

Os resultados obtidos neste estudo indicam possíveis riscos para a saúde pública local, uma vez que esses microrganismos podem transferir seus genes de resistência para as bactérias da microbiota intestinal humana. Dessa forma, cabe salientar a importância do uso racional de antimicrobianos na produção animal, incluindo medidas como a prescrição adequada dos agentes, considerando a necessidade do uso, além da orientação dos produtores quanto à administração correta.

Ademais, a inspeção dos produtos de origem animal e a capacitação dos produtores de leite e queijo, com o emprego de manejo adequado de ordenha e Boas Práticas de Fabricação, são outras medidas fundamentais para o controle de contaminações por microrganismos e dos resíduos de antimicrobianos, a fim de que se obtenha um alimento seguro para a população.

6 REFERÊNCIAS

AGUIAR, Felipe Rodrigues Magalhães de. **Presença de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) em queijos de coalho produzidos no estado do Ceará e seu perfil de resistência e genes de virulência**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/65022>. Acesso em: 15 ago. 2024.

ALMEIDA, Rita Alexandra de Jesus. **Bactérias isoladas de queijos portugueses feitos com leite cru de ovelha: identificação, resistência a antibióticos e genes de virulência**. 2023. Tese (Mestrado em Microbiologia Aplicada) - Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/62755>. Acesso em: 15 ago. 2024.

AMBROSINI, Larissa *et al.* Sabor, história e economia local: percepções dos consumidores gaúchos sobre o Queijo Colonial. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 26, n. 1, p. 201-221, 27 agosto 2020. DOI: <https://doi.org/10.36812/pag.2020261201-221>. Disponível em: <https://revistapag.agricultura.rs.gov.br/ojs/index.php/revistapag/article/view/654/585>. Acesso em: 15 ago. 2024.

ARRUDA, Camila Janaina Manguiera de *et al.* Revisão bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em foco**, Indaiatuba, n.11, p. 982-995, 2019. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/10/085_Revis%C3%A3o-bibliogr%C3%A1fica-de-antibi%C3%B3ticos-beta-lact%C3%A2micos-982-a-995.pdf. Acesso em: 10 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC)**. Brasília, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>. Acesso em: 10 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília, 2020. **Diário Oficial da União**. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2020/Decreto/D10468.htm#art. Acesso: 10 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos**. Brasília, 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/relatorio-prebaf-programa-nacional-de-monitoramento-da-prevalencia-e-da-resistencia-bacteriana-em-frango.pdf>. Acesso em: 15 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar: Informe - 2024**. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024>. Acesso em: 15 set. 2024.

BOMFIM, Adrielle Pinheiro *et al.* Qualidade microbiológica e caracterização da resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de queijos Coalho comercializados em Vitória da Conquista-Bahia. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 27, p. 1-10, 11 fevereiro de 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8656298>. Acesso em: 10 set. 2024.

CARDOSO, Patrícia Alves.; MARIN, José. Moacir. Resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* provenientes de queijo muçarela artesanal produzido no Brasil. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 30, n.2, p.104- 108, 2014. DOI: <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2014v30n2p104-108>. Acesso em: 14 set. 2024.

CASARIL, Kérley Braga Pereira Bento *et al.* Qualidade microbiológica de salames e queijos coloniais produzidos e comercializados na região sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v.7, n.2, p.75-85, 2017. DOI: <https://doi.org/10.21206/rbas.v7i2.416>. Acesso em: 20 ago. 2024.

CASTRO, Renata Dias de et al. **Fatores de patogenicidade, perfil de resistência a antimicrobianos e diversidade clonal de *Staphylococcus aureus* isolados de leite cru, soro fermento, manipuladores e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes, Brasil.** 2019. Tese (Doutorado em Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Colegiado do Curso de Pós-graduação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/34848>. Acesso em: 14 set. 2024.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.** 12. ed. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024. Disponível em: https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf. Acesso em: 29 ago. 2024.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition.** CLSI document M02-A11 (ISBN 1-56238-781-2 [Print]; ISBN 1-56238-782-0 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/nicol/Downloads/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2024.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement.** CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo4.pdf. Acesso em: 28 ago. 2024.

CISLAGHI, Fabiane Picinin de Castro; BADARÓ, Andréa Cátia Leal. Dilemas da produção de queijo colonial artesanal do Sudoeste do Paraná. **Revista Faz Ciência**, [s. l.] v. 23, n. 37, p. 108-124, 2021. DOI: <https://doi.org/10.48075/rfc.v23i37.27011>. Acesso em: 20 ago. 2024.

CUSSOLIM, Phylipe Adrian *et al.* Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista faculdades do saber**, v. 6, n. 12, p. 831-843, 2021. Disponível em: <https://rfs.emnuvens.com.br/rfs/article/view/120>. Acesso em: 20 ago. 2024.

DORIGON, C. **Mercados de produtos coloniais da Região Oeste de Santa Catarina**: em construção. 2008. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia de Produção) - Programa de Pós- Graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Janeiro, 2008.

GRANDO, Williani Fabíola *et al.* Suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de manipuladores de indústria de laticínios. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 4, p. 467-471, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Eduardo-Tondo/publication/49599949_SUSCETIBILIDADE_A_ANTIMICROBIANOS_DE_STAPHYLOCOCCUS_AUREUS_ISOLADOS_DE_MANIPULADORES_DE_INDUSTRIA_DE_LATICINIOS/links/00b49517a914befcf7000000/SUSCETIBILIDADE-A-ANTIMICROBIANOS-DE-STAPHYLOCOCCUS-AUREUS-ISOLADOS-DE-MANIPULADORES-DE-INDUSTRIA-DE-LATICINIOS.pdf. Acesso em: 14 set. 2024.

KAMIMURA, Bruna Akie *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, v. 80, p. 40-49, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.014>. Acesso em: 20 set. 2024.

KUROSAWA, Larissa Sayuri *et al.* Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* associados a mastite bovina. **Pubvet**, v. 14, p. 138, 2020. DOI: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n5a563.1-6>. Acesso em: 29 ago. 2024.

LUCAS, Shaiane D. M. *et al.* Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira – PR, *Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”*, v. 67, n. 386, p. 38-44, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120034>. Acesso em: 29 ago. 2024.

MACHADO, Juliane de Abreu Campos *et al.* Quinolonas: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça**, 2009. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/IKP7kWV7C8yy91N_2013-6-21-12-13-23.pdf. Acesso em: 20 ago. 2024.

MARIAN, Isadora Caroline. **Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de queijo colonial artesanal**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/254685>. Acesso em: 14 set. 2024.

MELO, Eveny Silva de *et al.* Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **Pubvet**, v. 12, p. 131, 2018. DOI: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n10a191.1-9>. Acesso em: 14 set. 2024.

MONECKE, Stefan *et al.* A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **PloS one**, v. 6, n. 4, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017936>. Acesso em: 10 set. 2024.

MORONI, Paolo. *et al.* Curta comunicação: susceptibilidade às drogas antimicrobianas de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália. **J. Dairy Sci**, v. 89, p. 2973-2976, 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Paolo-Moroni-3/publication/242668169_Curta_Comunicacao_Susceptibilidade_as_drogas_antimicrobianas_

de *Staphylococcus aureus* oriundos de mastites bovinas subclínicas na Itália/links/0a85e53a3d7dc620bb000000/Curta-Comunicacao-Susceptibilidade-as-drogas-antimicrobianas-de-Staphylococcus-aureus-oriundos-de-mastites-bovinas-subclínicas-na-Italia.pdf. Acesso em: 10 set. 2024.

MUNARETTO, Júlia Eduarda. **Bactérias superpoderosas: como a ciência ajuda na produção de alimentos artesanais seguros**. Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/259398>. Acesso em: 30 out. 2024.

OLIVEIRA, Francisco Irineu Pereira de *et al.* Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo coalho. **Cadernos ESP**, v. 13, n. 2, p. 82-93, 2019. Disponível em: <https://cadernos.esp.ce.gov.br/index.php/cadernos/article/view/200>. Acesso em: 10 set. 2024.

PASTRO, Jaqueline et al. Qualificação, valorização e RTIQ do queijo Colonial artesanal do Sudoeste do Paraná. In: **X Seminário de Extensão e Inovação da UTFPR**. 2020. Disponível em: <https://eventos.utfpr.edu.br/sei/sei2020/paper/view/5874>. Acesso em: 28 ago. 2024.

PEREIRA-MAIA, Elene Cristina et al. Tetraciclina e glicilciclina: uma visão geral. **Química nova**, v. 33, p. 700-706, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300038>. Acesso em: 14 set. 2024.

PIRES, Bruna Amatto Duarte et al. Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de queijo Minas Frescal no município do Rio de Janeiro—Perfil fenotípico e genotípico. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 7, n. 3, p. 86-91, 2019. DOI: <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01296>. Acesso em: 14 set. 2024.

RESENDE, Fernando; MALPASS, Ana Claudia Granato; OKURA, Mônica Hitomi. Estudo avaliativo do perfil de resistência de micro-organismos com destaque aos microrganismos com destaque aos micropatogênicos e aos antibióticos em leites e derivados. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 15, n. 1, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.3895/rbta.v15n1.12245>. Acesso em: 14 set. 2024.

RIBEIRO, Laryssa Freitas. **Características fenotípicas e genotípicas de Escherichia coli isoladas de queijos produzidos a partir de leite não pasteurizado**. 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/94609>. Acesso em: 14 set. 2024.

RODRIGUES, F. S. L et al. Qualidade microbiológica de queijos tipo Minas Frescal comercializados no Distrito Federal e determinação da resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas desses queijos. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde) - Universidade de Brasília, 2021.

SÁNCHEZ, Pilar; MUÑOZ, Rafael; GUTIÉRREZ, Norma. Resistência bacteriana aos antibióticos: mecanismos de transferência. **Revista Spei Domus**, v. 8, n. 17, 2012. Disponível em: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/94>. Acesso em: 10 set. 2024.

SILVA, Maritiele Naissinger *et al.* Qualidade de queijos coloniais comercializados por feirantes. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 11, n. 1, p. 135-146, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3895/rebrapa.v11n1.12486>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SILVA, N. C. C. Molecular characterization and clonal diversity of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in milk of cows with mastitis in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 6856-6862, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6719>. Acesso em: 29 ago. 2024.

SILVA, Neusely da, *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017. Disponível em: https://storage.blucher.com.br/book/pdf_preview/9788521212256-amostra.pdf. Acesso em: 30 out. 2024.

SILVA, Rafael Almeida da *et al.* Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em debate**, v. 44, p. 607-623, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012602>. Acesso em: 29 ago. 2024.

SILVA, Sarah Pereira da. **Qualidade microbiológica e resistência antimicrobiana de bactérias escherichia coli e staphylococcus aureus isoladas de queijos coalho artesanais**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2023.

SOUZA, Andréa das Neves Guedes de. **Efeito da Beta-lapachona na Inibição de Fatores de Virulência de Staphylococcus aureus meticilina-resistentes (MRSA)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Patologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/12624>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SOUZA, Werlem Fernandes de et al. Identificação de Escherichia Coli em queijos tipo minas artesanal e perfil de susceptibilidade antimicrobiana. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos Volume 3**, p. 42, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Elaine-Santos-19/publication/335708380_Identificacao_de_Escherichia_Coli_em_queijos_tipo_minas_artesanal_e_perfil_de_susceptibilidade_antimicrobiana/links/61549a8dfd7b3d1215631b93/Identificacao-de-Escherichia-Coli-em-queijos-tipo-minas-artesanal-e-perfil-de-susceptibilidade-antimicrobiana.pdf#page=42. Acesso em: 10 set. 2024.

TAVARES, Alana Borges. Queijo artesanal produzido no sul do rio grande do sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Goiânia, v.20, 1-10, e-47184, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-47184>. Acesso em: 29 ago. 2024.

TOCHETTO, Alessandra, *et al.* Resistência a antimicrobianos de escherichia coli isolada de queijo colonial artesanal produzido no meio oeste catarinense. **Anais da XIII Mostra de Iniciação Científica do IFC Campus Concórdia**, v. 13 n. 1, p. 14, 2023. Disponível em: <https://publicacoes.ifc.edu.br/index.php/mic/article/view/4348>. Acesso em 30 ago. 2024.

ZHANG, Yucheng *et al.* *Escherichia coli* enterotoxigênica: mecanismos de patogênese

intestinal e resistência à colonização pela microbiota intestinal. **Gut Microbes**, v. 14, n. 1, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2055943>. Acesso em: 29 ago. 2024.