



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Gabriella Aricó Rossi Garcia do Amaral

Biofilmes e Resistência Antimicrobiana: Uma Análise de Cepas Bacterianas de Origem Alimentar

Florianópolis

2025

Gabriella Aricó Rossi Garcia do Amaral

Biofilmes e Resistência Antimicrobiana: Uma Análise de Cepas Bacterianas de Origem Alimentar

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Marília Miotto Lindner

Florianópolis

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

do Amaral, Gabriella Aricó Rossi Garcia
Biofilmes e Resistência Antimicrobiana: Uma Análise de
Cepas Bacterianas de Origem Alimentar / Gabriella Aricó
Rossi Garcia do Amaral ; orientadora, Marília Miotto
Lindner, 2025.
73 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2. Biofilmes
bacterianos. 3. Saúde pública. 4. Resistência
antimicrobiana. 5. Microbiologia de Alimentos. I. Lindner,
Marília Miotto. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
III. Título.

Gabriella Aricó Rossi Garcia do Amaral

Biofilmes e Resistência Antimicrobiana: Uma Análise de Cepas Bacterianas de Origem Alimentar

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos” e aprovado em sua forma final.

Florianópolis, 18 de junho de 2025.



Documento assinado digitalmente
Vivian Maria Burin
Data: 08/07/2025 09:40:14-0300
CPF: ***.528.930-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Vivian Maria Burin, Dra.

Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Marília Miotto
Data: 07/07/2025 18:44:19-0300
CPF: ***.130.689-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Marília Miotto Lindner, Dra.

Orientadora Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
Isabela Maia Toaldo Fedrigo
Data: 07/07/2025 15:07:58-0300
CPF: ***.860.579-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Isabela Maia Toaldo Fedrigo, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
Pedro Luiz Manique Barreto
Data: 07/07/2025 10:26:50-0300
CPF: ***.693.129-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Pedro Luiz Manique Barreto, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, por todo o apoio, suporte e incentivo. Vocês estiveram ao meu lado em todas as circunstâncias da minha vida, nunca medindo esforços para me apoiar e incentivar nas minhas escolhas.

Ao meu namorado, obrigada por todo apoio emocional, por estar ao meu lado nos dias mais difíceis, por me escutar com paciência e por me lembrar que tudo ia dar certo mesmo quando eu duvidava. Sua presença fez toda a diferença.

À minha orientadora, Professora Doutora Marília Miotto Lindner, agradeço imensamente pela orientação, paciência, disponibilidade e todo auxílio prestado durante a realização deste trabalho e da minha formação acadêmica, além da confiança que depositou em mim para realização deste estudo.

Ao Laboratório de Análises de Alimentos do Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos (LABCAL), agradeço por todo aprendizado ao longo desses anos e pelo suporte. Agradeço também aos colegas de laboratório, por todo auxílio, suporte e conversas.

A todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica, meus sinceros agradecimentos pelo conhecimento compartilhado ao longo desses anos. Em especial, agradeço ao Professor Doutor Pedro Luiz Manique Barreto e à Isabela Maia Toaldo Fedrigo pelas valiosas contribuições ao meu trabalho e por gentilmente integrarem a banca examinadora da minha defesa.

À Universidade Federal de Santa Catarina, agradeço pela formação acadêmica de excelência, pela estrutura e recursos oferecidos, que permitiram a realização deste trabalho e proporcionaram uma base sólida para minha trajetória profissional. Ter feito parte de uma instituição com tamanha importância para o ensino e a pesquisa no Brasil é uma honra que levarei comigo por toda a vida.

Agradeço a todos que fizeram parte desta jornada e contribuíram para o meu crescimento e sucesso acadêmico.

RESUMO

Os biofilmes são comunidades bacterianas aderidas a superfícies, envoltas por matriz extracelular que favorece sua proteção e sobrevivência em condições adversas. Na indústria de alimentos, a formação de biofilmes ocorre como um mecanismo adaptativo, representando uma ameaça significativa, já que podem permanecer nas superfícies mesmo após a higienização, elevando o risco de contaminação cruzada e surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). A resistência antimicrobiana, considerada uma ameaça global por órgãos como Organização Mundial de Saúde (OMS), Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), quando associada aos biofilmes, agrava esses problemas, representando um desafio crítico para a indústria alimentícia e a saúde pública. Essas cepas resistem ao sistema imune e às terapias antimicrobianas, atuam como reservatórios de genes de resistência e promovem a disseminação desses genes, o que contribui para o surgimento e propagação de superbactérias, limitando os tratamentos disponíveis, tornando-os ineficazes e aumentando os custos e riscos associados a infecções persistentes. Além disso, mesmo cepas não patogênicas podem representar riscos ao servirem como reservatórios de resistência genética, facilitando a transferência desses genes para bactérias patogênicas. Nesse contexto, o controle rigoroso dos biofilmes e a correta aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) são essenciais para conter a disseminação de genes de resistência, garantir a segurança dos alimentos e saúde pública. O objetivo do estudo foi avaliar a capacidade de formação de biofilmes por cepas bacterianas isoladas de alimentos de origem animal e da cadeia de produção, com ênfase em cepas que apresentam resistência a antimicrobianos. Os resultados mostraram que 41,7% das cepas de *Escherichia coli* apresentam algum grau de formação de biofilme, *Enterobacter kobei* 37,5% formaram biofilme, enquanto em *Klebsiella pneumoniae*, 60% apresentaram capacidade de adesão. *Niallia circulans*, *Enterococcus mundtii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei* e *Klebsiella oxytoca* apresentaram 100% das cepas com capacidade de formação de biofilme em algum grau. Em *Proteus hauseri* e *Hafnia alvei*, 50% das cepas foram formadoras, enquanto em *Proteus rettgeri*, *Enterobacter bugandensis* e *Citrobacter braakii* nenhuma cepa apresentou aderência.

Palavras-chave: Biofilmes. Indústria de alimentos. Segurança dos alimentos. Doenças transmitidas por alimentos. Saúde pública. Resistência antimicrobiana.

ABSTRACT

Biofilms are bacterial communities adhered to surfaces, surrounded by an extracellular matrix that enhances their protection and survival under adverse conditions. Their formation cycle occurs in five stages: initial adhesion, irreversible attachment, structural formation, maturation, and cell dispersion, allowing the colonization of new areas. In the food industry, the presence of biofilms compromises product safety, as pathogenic microorganisms can remain on surfaces even after cleaning, increasing the risk of cross-contamination and outbreaks of foodborne diseases. It is estimated that microbial biofilms are associated with approximately 60% of foodborne disease outbreaks worldwide, constituting an important public health risk factor. Antimicrobial resistance, considered a global threat by organizations such as WHO, PAHO, and FAO, exacerbates this issue, as the effectiveness of antibiotics is reduced in biofilms, enabling persistence and recurrence of infections caused by clinically significant pathogens. The formation of biofilms by antibiotic-resistant strains represents a critical challenge for the food industry and public health, as their persistence favors cross-contamination. These strains resist the immune system, transfer resistance genes, and turn contaminated environments into genetic reservoirs, promoting the emergence of superbugs. In this context, the aim of the study was to evaluate the biofilm-forming capacity of bacterial strains isolated from animal-derived foods, with an emphasis on strains that exhibit antimicrobial resistance, through in vitro biofilm formation on inert surfaces using a microtiter plate-based model. The analysis showed that 41.7% of *Escherichia coli* strains demonstrated some degree of biofilm formation, *Enterobacter kobei* formed biofilms in 37.5% of cases, while in *Klebsiella pneumoniae*, 60% showed adhesion capacity. *Niallia circulans*, *Enterococcus mundtii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, and *Klebsiella oxytoca* showed 100% of the strains with some degree of biofilm-forming ability. In *Proteus hauseri* and *Hafnia alvei*, 50% of the strains formed biofilms, while in *Proteus rettgeri*, *Enterobacter bugandensis*, and *Citrobacter braakii*, no strains showed adherence.

Keywords: Biofilms. Food industry. Food safety. Foodborne diseases. Public health. Antimicrobial resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de desenvolvimento de biofilmes bacterianos.

35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Etapas do desenvolvimento de biofilmes bacterianos.	20
Quadro 2 - Principais microrganismos patogênicos e deteriorantes associados à formação de biofilmes.	26
Quadro 3 - Exemplos de bactérias e respectivos antimicrobianos aos quais apresentam resistência intrínseca	31
Quadro 4 - Perfil dos Isolados Bacterianos: Tipo de Amostra, Formação de Biofilme e Resistência Antimicrobiana	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Capacidade de formação de biofilme pelos isolados bacterianos e perfis de resistência a antibióticos.

37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHLs – Lactonas Acil-Homoserina

AI – Autoindutores

ALG – Alginato

AN – Ágar Nutriente

BHI – Infusão de Cérebro e Coração

BPF – Boas Práticas de Fabricação

BPPL – Lista de Patógenos Bacterianos Prioritários

BrCAST – Comitê Brasileiro de Resistência Antimicrobiana

BU – Unidade de Biofilme

CV – Cristal Violeta

DEC – Diarreogênico

DO – Densidade Óptica

DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos

EPS – Substâncias Poliméricas Extracelulares

ESBL – β -lactamases de Espectro Estendido

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

FQ – Fluoroquinolonas

HGT – Transferência Horizontal de Genes

ITU – Infecções do Trato Urinário

MDR – Multirresistentes

MDR-Kp – *Klebsiella pneumoniae* Multirresistentes

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde

PEL – Exopolissacarídeos Película

PIB – Produto Interno Bruto

POP – Procedimentos Operacionais Padronizados

PSL – Polissacarídeos

QS – Quorum Sensing

RAM – Resistência Antimicrobiana

TSA – Ágar Triptona de Soja

TSB – Caldo Triptona de Soja

UV – Ultravioleta

VRE – *Enterococcus* resistente à vancomicina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 OBJETIVOS.....	17
1.1.1 Objetivo geral.....	17
1.1.2 Objetivos específicos.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 BIOFILMES.....	18
2.1.1 Estrutura.....	18
2.1.2 Processo de formação.....	19
2.2 BIOFILMES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.....	24
2.2.1 Indústria de laticínios.....	27
2.2.2 Indústria de carnes.....	28
2.3 SEGURANÇA DOS ALIMENTOS.....	28
2.3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).....	28
2.3.2 Resistência Antimicrobiana (RAM).....	29
2.3.1 Resistência associada aos biofilmes.....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 AMOSTRAS.....	33
3.2 ISOLAMENTO DE CEPAS.....	33
3.2 BIOFILME.....	34
3.2.1 Condições de cultivo e crescimento bacteriano.....	34
3.2.2 Lavagem, fixação, coloração, solubilização e determinação do biofilme.....	35
3.2.3 Interpretação dos resultados.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	56
6 CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

A observação dos biofilmes teve início em 1683, quando Antonie van Leeuwenhoek identificou microrganismos em sua própria placa dentária (Rabin *et al.*, 2015). No entanto, estudos sistemáticos sobre a adesão bacteriana a superfícies surgiram apenas na década de 1940. Em 1978, os biofilmes foram definidos como comunidades microbianas sésseis, envoltas por uma matriz polimérica extracelular (EPS), autossintetizada e aderida a superfícies (Percival *et al.*, 2011). Desde então, tem-se demonstrado que os biofilmes são estruturas altamente organizadas, compostas por microcolônias imersas em uma matriz rica em polissacarídeos, DNA extracelular, proteínas e lipídios, com canais aquosos que facilitam a troca de nutrientes e resíduos (Percival *et al.*, 2011; Zhao; Sun; Liu, 2023).

A formação de biofilmes representa uma estratégia adaptativa dos microrganismos, permitindo sua sobrevivência em condições adversas. Essa capacidade oferece vantagens significativas em comparação às células livres, como maior eficiência no aproveitamento de nutrientes, proteção contra agentes antimicrobianos, estabilidade em diferentes ambientes e favorece interações entre diferentes espécies microbianas (Muhammad *et al.*, 2020). A adesão inicial ocorre mediante a exposição a condições hostis, que induz à secreção de exopolissacarídeos, fibrinas e lipoproteínas, formando a matriz que ancora o biofilme às superfícies inertes. Além do mais, a matriz contribui na comunicação entre as células, oferece proteção contra danos químicos, facilita o transporte de oxigênio e nutrientes e estimula a proliferação bacteriana dentro do biofilme (Zhao; Sun; Liu, 2023).

A presença de biofilmes representa um desafio significativo para o controle microbiológico, especialmente devido à sua elevada resistência a agentes antimicrobianos. Essa resistência está associada à barreira física criada pela matriz polimérica, à redução do oxigênio nas camadas internas, à modificação da atividade metabólica dos microrganismos, à extrusão de antimicrobianos por bombas de efluxo e a alterações genéticas que conferem resistência (Satpathy *et al.*, 2016; Elafify *et al.*, 2024).

Atualmente, entre 40% e 80% das células de bactérias existentes demonstram potencial para a formação de biofilmes (Muhammad *et al.*, 2020). Os biofilmes tornaram-se uma ameaça global de saúde pública, principalmente por sua resistência a antibióticos, à resposta imune do hospedeiro e a outras condições adversas (Zhao; Sun; Liu, 2023). Diante desse cenário, a contaminação microbiológica de alimentos representa um problema crescente de saúde pública e também acarreta perdas econômicas significativas para o setor alimentício (Liu *et al.*, 2023).

Para garantir a segurança dos alimentos, é essencial que estes estejam livres de microrganismos patogênicos capazes de causar doenças transmitidas por alimentos (DTAs), além de apresentarem uma microbiota deteriorante reduzida (Scherrer; Marcon, 2016). Na indústria de alimentos, a formação de biofilmes geralmente começa com o acúmulo de resíduos orgânicos e inorgânicos nas superfícies, criando condições favoráveis para o desenvolvimento de comunidades bacterianas (Oliveira; Brugnera; Piccoli, 2010). Após sua formação, os biofilmes promovem a multiplicação bacteriana, que são fontes de contaminação, incluindo patógenos relacionados a DTAs (Scherrer; Marcon, 2016). Esses biofilmes podem se aderir fortemente, e com o tempo, fragmentos podem se desprender, contaminando outras superfícies e os alimentos, representando um risco à saúde dos consumidores (Galie *et al.*, 2018).

Diversas bactérias patogênicas e deteriorantes estão associadas à formação de biofilmes em ambientes de processamento de alimentos, destacam-se cinco patógenos de maior relevância clínica e sanitária: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Esses agentes não apenas possuem alta capacidade de provocar surtos de DTAs, como também apresentam habilidade para formar biofilmes em diversas superfícies da indústria alimentícia, dificultando seu controle (Liu *et al.*, 2023). Além disso, biofilmes compostos por múltiplas espécies demonstram elevada resistência a desinfetantes convencionais, o que pode gerar prejuízos econômicos e sérios impactos à saúde pública (Elafify *et al.*, 2024). Logo, a prevenção e o controle da formação de biofilmes são fundamentais para reduzir a carga microbiana nos ambientes de produção e minimizar a ocorrência de DTAs (Scherrer; Marcon, 2016).

Diante da relevância dos biofilmes na contaminação de alimentos e na resistência bacteriana, torna-se essencial compreender os mecanismos que envolvem sua formação. As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) representam uma preocupação crescente em saúde pública global, sendo responsáveis por milhões de casos e óbitos anualmente. Esse cenário se agrava com o aumento da resistência antimicrobiana (RAM), que compromete a eficácia dos tratamentos e amplia os riscos à saúde da população. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de formação de biofilmes por cepas bacterianas isoladas de alimentos, com foco naquelas resistentes a antimicrobianos (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. kobei*, *K. pneumoniae*, *N. circulans*, *E. mundtii*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *C. cellulans*, *P. hauseri*, *P. rettgeri*, *P. mirabilis*, *H. alvei*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. bugandensis*, *C. braakii* e *K. oxytoca*). A identificação do perfil de aderência dessas cepas contribuirá para o entendimento dos riscos associados à presença de biofilmes em ambientes de processamento de alimentos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade de formação de biofilmes por cepas bacterianas isoladas de alimentos de origem animal e da cadeia de produção, com ênfase em cepas que apresentam resistência a antimicrobianos.

1.1.2 Objetivos específicos

Selecionar cepas bacterianas previamente isoladas de linguiças coloniais, leite cru de ovelha, queijo caprino, swabs das mãos dos manipuladores, swabs de prateleiras de maturação dos queijos e amostras de fezes dos manipuladores;

Avaliar a capacidade de formação de biofilmes pelas cepas previamente selecionadas;

Discutir os potenciais riscos associados à presença de cepas formadoras de biofilmes em alimentos e relacionadas com o ambiente de produção alimentar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOFILMES

As bactérias podem existir de duas maneiras, sendo de vida livre, como chamamos de estado planctônico ou aderidas a superfícies, chamado de sésil (Khatoon *et al.*, 2018). Os biofilmes representam a forma de vida sésil, são comunidades complexas de células bacterianas, envoltas por uma matriz polimérica, aderidas em superfícies bióticas ou abióticas (Oliveira; Brugnera; Piccoli, 2010; Satpathy *et al.*, 2016). Esse estado altera a expressão de genes responsáveis pela produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que desempenham papel essencial na estruturação tridimensional do biofilme, promove sua adesão às superfícies, proporciona proteção e favorece sua sobrevivência em ambientes adversos (Khatoon *et al.*, 2018). Podem ser formados por uma única espécie microbiana ou por uma combinação de bactérias, fungos, arqueias, protozoários e leveduras (Zhao; Sun; Liu, 2023).

Diversas bactérias alternam entre o estado planctônico, caracterizado por alta taxa de crescimento e reprodução celular, e o estado sésil, considerado sua forma predominante. Isso acontece por alguns fatores, como maior tolerância a condições ambientais adversas, fixação em superfícies que dificultam a remoção e maior resistência. No estado sésil, as células podem ser até 1000 vezes mais resistentes do que na forma de vida livre (Rabin *et al.*, 2015). Geralmente, os biofilmes são formados como um mecanismo de defesa, garantindo um ambiente favorável (Khatoon *et al.*, 2018).

2.1.1 Estrutura

O biofilme é um sistema constituído por células, material exopolimérico e espaços extracelulares, sua organização espacial pode ser definida como a arquitetura do biofilme (Rivas *et al.*, 2018). Nos biofilmes, a fração microbiana representa menos de 10% da massa seca, enquanto a matriz extracelular pode ultrapassar 90% do total (Satpathy *et al.*, 2016).

Essa matriz é constituída principalmente por EPS que mantêm as células microbianas imobilizadas e próximas umas das outras, facilitando interações celulares intensas. Além disso, conseguem reter enzimas extracelulares e possibilita a formação de um sistema digestivo externo eficiente, aproveitando os nutrientes presentes no meio aquoso como fonte de energia (Flemming; Wingender, 2010). Também atua como barreira protetora em condições desfavoráveis, como desinfetantes, radiação ultravioleta (UV), mudanças

osmóticas, variação de pH, desidratação, agentes antimicrobianos, respostas imunológicas do hospedeiro e toxicidade por metais (Beshiru; Igbinsosa; Igbinsosa, 2018).

A composição das EPS varia entre diferentes biofilmes, sendo influenciada por fatores como a diversidade microbiana presente, forças mecânicas do ambiente, temperatura e disponibilidade de nutrientes (Flemming; Wingender, 2010). Embora os polissacarídeos sejam os principais constituintes da matriz, outros compostos, como proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e outras biomoléculas também estão presentes, contribuindo para a organização estrutural e a resistência do biofilme (Karygianni *et al.*, 2020).

2.1.2 Processo de formação

A formação de biofilmes pelas bactérias é uma estratégia de sobrevivência diante de condições desfavoráveis, como exposição à radiação UV, desidratação, escassez de nutrientes, variações extremas de pH e temperatura, alta salinidade, pressão elevada e a presença de agentes antimicrobianos (Muhammad *et al.*, 2020). Diferentes características ambientais influenciam no desenvolvimento dos biofilmes, como o pH, propriedades reológicas e adesivas, temperatura e disponibilidade de nutrientes. Apesar de todas as superfícies estarem suscetíveis à formação de biofilmes, as características do material, como rugosidade, hidrofobicidade, facilidade de limpeza e desinfecção, influenciam na adesão bacteriana e na taxa de desenvolvimento do biofilme (Rivas *et al.*, 2018).

A formação e o desenvolvimento dos biofilmes é um processo complexo, contínuo e cíclico, dependem da composição da matriz, do meio de cultura e disponibilidade de nutrientes, das características intrínsecas das células, das moléculas sinalizadoras, do metabolismo celular e do controle genético (Liu *et al.*, 2023). As etapas são descritas em cinco estágios: (1) aderência inicial e reversível das células planctônicas a superfícies; (2) aderência irreversível e multiplicação celular; (3) formação inicial da estrutura do biofilme, caracterizado pela produção de moléculas sinalizadoras; (4) maturação do biofilme; e, por fim, (5) dispersão das células do biofilme e a colonização de novas superfícies (Satpathy *et al.*, 2016). Ainda que as cinco etapas de formação do biofilme sejam conservadas, os mecanismos de expressão e regulação desse processo variam entre as diferentes espécies bacterianas (Muhammad *et al.*, 2020). Essas etapas estão resumidas no Quadro 1 e ilustradas na Figura 1.

Quadro 1. Etapas do desenvolvimento de biofilmes bacterianos.

Etapa	Descrição	Características principais
1. Adesão inicial	Contato reversível com a superfície.	Aproximação da superfície, interações fracas, auxílio de pili e flagelos. Fatores que influenciam: composição e carga da superfície, temperatura e propriedades das células.
2. Adesão irreversível	Fixação irreversível na superfície.	Forças de atração superam repulsão, participação de ligações fortes, comunicação por quorum sensing e alterações celulares.
3. Formação inicial da estrutura do biofilme	Crescimento e produção de EPS.	Estabelecimento da matriz, aumento da coesão e a força de adesão do biofilme.
4. Amadurecimento	Estruturação tridimensional.	Crescimento, formação de microcolônias e estrutura tridimensional, perda de motilidade, produção intensa de EPS, formação de canais aquosos para troca de nutrientes e remoção de resíduos.
5. Dispersão	Liberação de células para colonização de novas superfícies.	Células se desprendem do biofilme e colonizam novas superfícies, motivada por falta de nutrientes, acúmulo de resíduos, fatores ambientais e regulação genética. Reinício do ciclo.

Fonte: Autora (2025).

Inicialmente, para a formação do biofilme é necessário a aproximação das bactérias de uma superfície (Rabin *et al.*, 2015). Nesse contexto, as células planctônicas ao entrar em contato com uma superfície favorável, podem se aderir por meio de forças físicas ou através

de apêndices bacterianos, como pelo pili auxiliando a movimentação por contrações (twitching motility) ou flagelos que são responsáveis pela interação inicial com a superfície, caracterizando uma adesão inicial reversível. Essa etapa inicial é influenciada por diversos fatores, incluindo a composição da superfície, temperatura, pressão e propriedades da célula bacteriana. A adesão ocorre principalmente por interações hidrofóbicas, adesão proteica, interações eletrostáticas e forças de Van der Waals, sendo estas interações fracas e, portanto, explicando a natureza transitória e reversível (Khatoon *et al.*, 2018).

As células bacterianas possuem diversos grupos funcionais, como amino, carboxila e fosfato, que resultam em uma carga superficial negativa. Dessa forma, superfícies com carga positiva favorecem a adesão de bactérias em estado planctônico, enquanto aquelas com carga negativa tendem a dificultar essa interação (Zhao; Sun; Liu, 2023). À medida que as bactérias se aproximam da superfície, ativam-se forças atrativas e repulsivas que modulam essa interação. Quando estão a uma distância aproximada de 10 a 20 nm da superfície, suas cargas negativas são repelidas pelas cargas negativas do substrato e essa repulsão pode ser superada por forças atrativas de Van der Waals e pela atuação de apêndices, que auxiliam na adesão mecânica (Rabin *et al.*, 2015).

Uma vez aderidas, as bactérias iniciam a captação de moléculas orgânicas, como proteínas, lipídeos, polissacarídeos e ácidos graxos, além de moléculas inorgânicas, como sais e água, a fim de formar uma camada superficial apropriada que será incorporada em uma estrutura heterogênea de EPS (Liu *et al.*, 2023).

A adesão irreversível tem início quando as forças de atração superam as forças de repulsão. Algumas células permanecem imobilizadas e se tornam aderidas de forma irreversível (Khatoon *et al.*, 2018). Nessa etapa, a fixação das células é fortemente influenciada por interações, como ligações covalentes e de hidrogênio (Sadeghzadeh *et al.*, 2024). Moléculas de adesão bacteriana são reconhecidas por componentes da superfície celular microbiana, fortalecendo as interações entre as bactérias, sendo influenciado por fatores como a hidrofobicidade da superfície celular (Zhao; Sun; Liu, 2023).

A comunicação das bactérias entre si, passa acontecer por meio de um sistema de sinalização extracelular baseado em quorum sensing (QS) (Liu *et al.*, 2023). Um processo que envolve a secreção endógena de moléculas sinalizadoras conhecidas como autoindutores (AIs), que quando atingem concentrações elevadas, são absorvidas e induzem mudanças regulatórias nas células (Rivas *et al.*, 2018). Essa comunicação intercelular, possui capacidade de sincronizar o comportamento coletivo das bactérias, que permitem a detecção da densidade populacional e coordenam atividades em grupo (Muhammad *et al.*, 2020). As bactérias

gram-negativas produzem lactonas acil-homoserina (AHLs), enquanto as gram-positivas utilizam oligopeptídeos (Elafify *et al.*, 2024).

Essa etapa ainda é caracterizada por uma série de alterações celulares, ocorrendo a ativação de genes que são induzidos pela superfície, como o *algC* (que participa da biossíntese do núcleo de lipopolissacarídeos e do exopolissacarídeo alginato), além de genes relacionados à produção da matriz de polissacarídeos e genes associados à resistência a antibióticos, como β -lactamases, fenazinas, SagS e BrlR (Sauer *et al.*, 2022).

Na terceira etapa da formação dos biofilmes, inicia-se a produção da matriz extracelular polimérica, essencial para o fortalecimento da adesão celular e o crescimento do biofilme (Zhao; Sun; Liu, 2023). Esse processo é regulado pelo sistema de quorum sensing, que coordena a liberação de EPS pelas bactérias já fixadas. Nas bactérias gram-negativas, devido à presença de ácidos urônicos ou grupos piruvato ligados a cetais, os polissacarídeos da matriz extracelular costumam apresentar caráter neutro ou polianiónico, favorecendo a interação com cátions divalentes, como magnésio e cálcio, que atuam na reticulação das cadeias poliméricas, aumentando a coesão e a força de adesão do biofilme. Já em bactérias gram-positivas, a matriz extracelular tende a ter predominância catiônica (Muhammad *et al.*, 2020).

A quarta fase corresponde ao seu amadurecimento, momento em que as células bacterianas se multiplicam e perdem seus organelos de motilidade. Nessa etapa, há uma intensa produção de EPS, incluindo exopolissacarídeos película (Pel), locus de síntese de polissacarídeos (Psl) e alginato (ALG), que desempenham um papel essencial na estruturação do biofilme (Sadeghzadeh *et al.*, 2024). Com o avanço da maturação, são formados microcolônias microbianas, o biofilme se espessa e adquire uma estrutura tridimensional (Zhao; Sun; Liu, 2023).

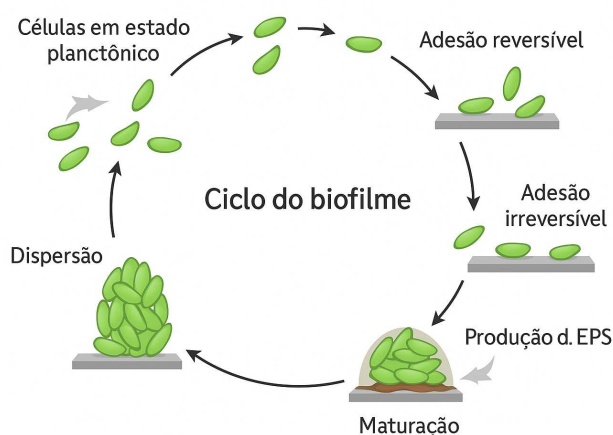
Com o fortalecimento da organização das microcolônias e o aumento na produção de EPS, ocorre uma alteração na expressão gênica que direciona a síntese de componentes responsáveis pela coesão entre as células (Muhammad *et al.*, 2020). Em seguida, ocorre a criação de canais preenchidos por água, que promovem a troca de compostos entre as células e o ambiente externo, atuando de maneira análoga ao sistema circulatório humano, garantindo os nutrientes para as bactérias e a remoção de metabólitos indesejáveis (Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

A última fase do desenvolvimento do biofilme é a dispersão, etapa essencial para a disseminação bacteriana e colonização de novas superfícies (Sadeghzadeh *et al.*, 2024). Esse processo pode ser compreendido em três etapas principais: o desprendimento das células das

microcolônias, o deslocamento para um novo ambiente e, por fim, a adesão a essa nova superfície (Kaplan, 2010). Podem ocorrer de forma ativa, quando as próprias bactérias degradam a matriz de EPS por meio da produção de enzimas ou pela regulação da expressão de c-di-GMP, ou de maneira passiva, sendo influenciado por fatores externos, como fluxo de líquidos e forças de cisalhamento (Zhao; Sun; Liu, 2023). Após a dispersão, as bactérias retornam ao estado planctônico, garantindo sua sobrevivência e possibilitando o reinício do ciclo de formação do biofilme (Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

A dispersão do biofilme maduro é influenciada por diversos fatores, como o crescimento excessivo da população bacteriana que pode levar à escassez de nutrientes no interior do biofilme, forçando as células a se desprender em busca de condições mais favoráveis. Além disso, a intensa competição por recursos estimula a migração bacteriana para novas superfícies onde haja maior disponibilidade de nutrientes. A produção de enzimas capazes de degradar a matriz extracelular de EPS também facilita esse processo, permitindo que as células se libertem da estrutura do biofilme (Sadeghzadeh *et al.*, 2024). Alterações ambientais, como variações de temperatura, deficiência de oxigênio e acúmulo de metabólitos, podem desencadear a dispersão (Muhammad *et al.*, 2020). Por fim, a regulação genética desempenha um papel crucial, inibindo a expressão de genes envolvidos na síntese de polissacarídeos e fímbrias, ao mesmo tempo em que ativa genes relacionados à motilidade celular e degradação da matriz extracelular, favorecendo a dispersão bacteriana (Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

Figura 1. Ciclo de desenvolvimento de biofilmes bacterianos.



Fonte: Adaptado de Sadeghzadeh *et al.* (2024)

2.2 BIOFILMES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

No setor alimentício, a formação de biofilmes é um fenômeno comum, atuando como um mecanismo adaptativo, favorecendo sua permanência em ambientes adversos. Essa organização estrutural confere vantagens competitivas, como maior resistência à limitação de nutrientes, à competição por espaço e às condições ambientais desfavoráveis (Oliulla *et al.*, 2024). A presença de biofilmes bacterianos em superfícies da indústria de alimentos constitui uma ameaça significativa à segurança dos alimentos, uma vez que microrganismos patogênicos podem permanecer aderidos mesmo após os processos de higienização (Costa *et al.*, 2016). A principal rota de transmissão associada à contaminação cruzada no ambiente de processamento de alimentos é a transferência por meio do contato direto de bactérias das superfícies de contato para os produtos alimentícios (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008).

As características das superfícies que entram em contato com alimentos exercem influência significativa na aderência bacteriana e na formação de biofilmes. Propriedades como a textura superficial, além da facilidade de higienização e desinfecção, afetam diretamente a capacidade das bactérias em estado planctônico de se fixarem e desenvolverem biofilmes (Elafify *et al.*, 2024). Diversas bactérias possuem a capacidade de formar biofilmes em diferentes materiais comumente encontrados na indústria de alimentos, tais como aço inoxidável, polietileno, madeira, vidro, polipropileno e borracha (Galié *et al.*, 2018).

Diferentes fatores influenciam na eficácia com que as células presentes no biofilme são transferidas para os alimentos. Entre eles, destacam-se as estruturas superficiais bacterianas presentes na matriz de EPS, que contribuem para a adesão celular e influenciam a força de fixação das bactérias às superfícies, a densidade celular, a organização tridimensional e a presença de múltiplas espécies bacterianas em biofilmes mistos (Wang, 2019).

Pesquisas demonstraram que tanto o tempo de contato quanto a pressão exercida influenciam a translocação dos biofilmes (Rodríguez; McIandsborough, 2007). O grau de hidratação das superfícies de contato também é fator determinante na transferência de células, uma vez que a presença de umidade favorece a formação de efeito capilar ou ponte líquida entre as células e os alimentos. De forma semelhante, a composição dos produtos alimentícios pode ser significativa na disseminação e na transferência dessas células (Wang, 2019).

Ao contrário dos estudos realizados em laboratório, que geralmente empregam biofilmes formados por cepas isoladas, os ambientes microbianos encontrados em indústrias de alimentos são amplamente caracterizados pela presença de comunidades compostas por

múltiplas espécies (Wang, 2019). Desse modo, a complexidade aumenta, pois são estruturas altamente organizadas e estáveis, conferindo vantagens ecológicas significativas, que inclui a potencialização da adesão à superfície, podendo ocorrer para certas espécies independentemente da presença de fimbrias especializadas (Galié *et al.*, 2018). Adicionalmente, a estrutura de biofilmes mistos demonstra maior resistência frente à ação de agentes antimicrobianos e dificultam sua remoção durante os processos de higienização industrial. A interação sinérgica contribui para a persistência nas superfícies de contato com alimentos, elevando os riscos de contaminação cruzada e comprometendo a qualidade e a segurança dos produtos finais (Muhammad *et al.*, 2020).

Em suma, a formação de biofilmes proporciona múltiplas vantagens adaptativas para as células microbianas no contexto da indústria de alimentos, incluindo resistência a fatores físicos como a dessecação e fluxos líquidos, além de proteção química contra antimicrobianos e desinfetantes comumente empregados (Galié *et al.*, 2018). Desse modo, patógenos se aderem em áreas protegidas, tanto nas superfícies dos produtos quanto nas instalações de produção, assim estes ambientes representam fontes relevantes de contaminação persistente e estão frequentemente associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (Bai; Nakatsu; Bhunia, 2021). Essa questão também está associada a prejuízos financeiros, uma vez que a deterioração dos alimentos por microrganismos é responsável por cerca de um terço das perdas na cadeia de suprimentos, destacando a importância da prevenção e do controle de biofilmes na indústria alimentícia (Rivas *et al.*, 2018).

Ademais, os biofilmes também representam desafios técnicos para a indústria, uma vez que podem dificultar a transferência de calor nas superfícies dos equipamentos, aumentando a resistência ao escoamento dos fluidos e intensificar processos corrosivos. Esses efeitos comprometem a eficiência operacional das linhas de produção, resultando em perdas de desempenho e maior necessidade de manutenção (Muhammad *et al.*, 2020).

Diversos microrganismos patogênicos e deteriorantes são reconhecidos por sua capacidade de formar biofilmes em ambientes industriais (Muhammad *et al.*, 2020) como ilustrado no quadro 2, que relaciona esses microrganismos aos seus impactos sobre a saúde pública e a qualidade dos alimentos.

Quadro 2. Principais microrganismos patogênicos e deteriorantes associados à formação de biofilmes.

Microrganismo	Características	Efeitos na saúde	Principais alimentos relacionados	Referências
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gram-positiva; Ubíqua; Anaeróbia facultativa; psicrotrófica; Tolerante a altas concentrações de sal; Capaz de crescer em ampla faixa de pH.	Causadora da listeriose: afeta principalmente gestantes, recém-nascidos, idosos e indivíduos imunocomprometido, taxa de mortalidade elevada.	Laticínios, frutas e vegetais, carnes processadas e pescados.	(Matle; Mbatha; Madoroba, 2020; Mazaheri <i>et al.</i> , 2021)
<i>Salmonella spp.</i>	Gram-negativa; Anaeróbia facultativa; Bactéria móvel Frequentemente associada a surtos de DTA.	Doença gastrointestinal: náusea, vômito, diarreia, cólicas e febre; Doença tifoide: febre alta, diarreia ou constipação, dores no corpo, dor de cabeça e letargia e até 10% das pessoas não tratadas podem morrer.	Aves, suínos e produtos cárneos processados, frutas e vegetais crus.	(FDA, 2012; Galié <i>et al.</i> , 2018)
<i>Escherichia coli</i>	Gram-negativa; frequentemente encontrada no intestino de humanos e animais de sangue quente; geralmente inofensiva, mas alguns sorotipos, como E. coli	Surtos de diarreia e síndrome hemolítico-urêmica. Responsável por colite hemorrágica (E. coli 0157:H7).	Laticínios, embutidos fermentados, carne, aves, bebidas e vegetais.	(Bai; Nakatsu; Bhunia, 2021; WHO, 2018)

	0157:H7, podem causar doenças graves.			
<i>Pseudomonas spp.</i>	Gram-negativa; Patógeno oportunista; Ubíquo; Móvel; Secretam enzimas extracelulares, facilitando a deterioração dos alimentos.	Pode causar infecções agudas e crônicas graves.	laticínios, carne bovina, aves, frutas e vegetais.	(Bai; Nakatsu; Bhunia, 2021; Li <i>et al.</i> , 2023)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram-positiva; patógeno oportunista humano; Produz toxinas entéricas termorresistentes.	Intoxicações alimentares rápidas e intensas, causando vômito e diarreia.	Principalmente produtos de origem animal.	(Bai; Nakatsu; Bhunia, 2021; Galié <i>et al.</i> , 2018)

2.2.1 Indústria de laticínios

Neste setor, inúmeros processos e estruturas, incluindo tanques de leite cru, tubulações, centrífugas de manteiga, tanques de queijo, pasteurizadores e ferramentas de embalagem, funcionam como substratos para a formação de biofilmes em diferentes temperaturas (Galié *et al.*, 2018). Na indústria de laticínios, diferentes patógenos já foram isolados de produtos e ambientes de processamento, como *Enterobacter*, *Listeria*, *Streptococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas* (Elafify *et al.*, 2024).

Uma revisão sistemática identificou 756 isolados bacterianos em equipamentos, leite e derivados, sendo 69,31% provenientes de equipamentos e 30,69% em leite e derivados. Os gêneros *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Listeria* e *Pseudomonas* corresponderam a mais de 80% dos isolados em equipamentos. *Bacillus* foi o mais recorrente, devido à sua elevada resistência a tratamentos térmicos como a pasteurização, já *Staphylococcus*, foi encontrado em diversas superfícies, como equipamentos, tanques de resfriamento, e nas mãos de manipuladores, destacando-se pela sua habilidade de formar biofilmes em contato com o leite, o que representa um risco à qualidade dos produtos e à saúde do consumidor (Siqueira *et al.*, 2021).

A composição rica em proteínas, gorduras, carboidratos e vitaminas torna o leite um meio altamente favorável ao desenvolvimento microbiano. *Pseudomonas aeruginosa* é frequentemente isolada desse alimento e sua capacidade de formar biofilmes facilita a adesão às superfícies internas de tanques de resfriamento, latões e tubulações (Li *et al.*, 2023). Estudos complementares demonstram que cepas de *Listeria* isoladas de laticínios possuem forte capacidade de formar biofilmes em superfícies como aço inoxidável, especialmente em temperaturas reduzidas (Silva *et al.*, 2022).

2.2.2 Indústria de carnes

Na indústria da carne, embora os couros dos animais sejam considerados a principal fonte de contaminação das carcaças durante o processamento, biofilmes bacterianos presentes nas instalações também representam uma ameaça significativa (Wang, 2019). Os equipamentos foram apontados como os principais responsáveis pela contaminação cruzada por *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. (Elafify *et al.*, 2024). Um estudo conduzido por Marouani-Gadri, Augier e Carpentier, demonstrou que diversas espécies bacterianas, como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, são capazes de coexistir e formar biofilmes em ambientes de processamento de carne.

Através de diversos estudos, foram identificadas espécies de *Pseudomonas* em diferentes tipos de carnes comercializadas em diversos países. No Egito, foram detectadas em 71,11% da carne moída, 43,33% das linguiças frescas e 26,67% dos hambúrgueres congelados. Em Mosul, 35,33% das amostras de carne bovina, ovina e de frango apresentaram presença do gênero, com destaque para a carne de frango (Li *et al.*, 2023).

A adesão de *Escherichia coli* O157:H7 é um fator preocupante para a indústria de carnes, especialmente devido à sua relevância como patógeno alimentar. Diversos estudos avaliaram sua capacidade de aderência em superfícies de frigoríficos, registrando adesão sob diferentes temperaturas e tipos de materiais, com maior fixação observada em temperaturas mais baixas (Elafify *et al.*, 2024).

2.3 SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

2.3.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs)

Embrapa (2021), define segurança dos alimentos como a garantia da qualidade dos alimentos em questão microbiológica, química, física ou sensorial, não representando riscos à saúde. A segurança microbiológica é essencial na prevenção das doenças transmitidas por

alimentos, que estão associadas à ingestão de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos e suas toxinas, sendo um problema de saúde pública (WHO, 2019).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), os grupos mais vulneráveis às doenças transmitidas por alimentos incluem bebês, crianças, gestantes, idosos e pessoas com doenças crônicas. As doenças diarreicas, por exemplo, afetam cerca de 220 milhões de crianças todos os anos, resultando em aproximadamente 96 mil mortes. Diante desse cenário, a segurança dos alimentos é uma preocupação de escala global.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que todo ano cerca de 600 milhões de pessoas em todo o mundo adoecem devido ao consumo de alimentos contaminados, sendo que 420 mil dessas pessoas morrem. Além do impacto na saúde da população, alimentos inseguros provocam prejuízos econômicos significativos. Com isso, em países de baixa e média renda, estima-se uma perda anual de aproximadamente US\$110 bilhões em produtividade e despesas médicas.

Atualmente, são conhecidas cerca de 250 doenças associadas ao consumo de alimentos contaminados (Melo *et al.*, 2018). Os patógenos mais frequentes são: *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* e *Escherichia coli* entero-hemorrágica, os quais afetam milhões de pessoas todos os anos, podendo causar quadros clínicos graves e em alguns casos podem ser fatais. Os sintomas mais comuns incluem febre, cefaléia, náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia (WHO, 2024a).

Os biofilmes microbianos estão associados a aproximadamente 60% dos surtos de DTAs no mundo, o que torna sua ocorrência em indústrias de alimentos motivo de preocupação, especialmente no que diz respeito à segurança alimentar. Os principais agentes contaminantes podem ter origem no ar, nos equipamentos ou nas superfícies de contato com os alimentos e, quando os procedimentos de higienização são insuficientes, favorecem a formação e o acúmulo dos mesmos (Liu *et al.*, 2023).

2.3.2 Resistência Antimicrobiana (RAM)

Nesse mesmo contexto, a OMS, a OPAS e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) consideram a resistência antimicrobiana uma das principais ameaças globais à saúde pública e ao desenvolvimento, afetando países de todas as regiões e níveis de renda, porém os países de baixa e média renda são os mais afetados. Além disso, muitos dos avanços da medicina moderna podem ser colocados em risco, uma vez que dificulta o tratamento de infecções e torna outros procedimentos mais arriscados, como cirurgias (WHO, 2023)

A Resistência aos Antimicrobianos (RAM) é definida pela Organização Mundial da Saúde como o processo que os microrganismos sofrem alterações quando expostos a antimicrobianos, sendo um processo natural de alterações genéticas em patógenos. No entanto, podem ser acelerados principalmente pelo uso incorreto e excessivo de antimicrobianos em humanos, animais e plantas, estimulando o desenvolvimento de patógenos resistentes a medicamentos, tornando-os inofensivos.

Nesse cenário, destaca-se a abordagem "One Health" (Uma Só Saúde), que reconhece a interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental. Essa abordagem propõe ações integradas entre os setores da saúde pública, produção animal, agricultura e meio ambiente para conter a disseminação da RAM, promovendo práticas mais seguras no uso de antimicrobianos ao longo de toda a cadeia alimentar (Wang *et al.*, 2021).

Segundo a Codex Alimentarius, os sistemas de produção agrícola e cadeias alimentares têm relevância no desenvolvimento e disseminação da RAM, logo os alimentos desempenham um papel importante nesse cenário, trazendo implicações para a segurança alimentar. O uso de antimicrobianos em animais produtores de alimentos está relacionado com o surgimento de microrganismos resistentes na cadeia alimentar.

O uso inadequado de antimicrobianos também provoca custos econômicos significativos, pois gera a necessidade de cuidados mais caros e intensivos, bem como prejudica a produtividade agrícola. O Banco Mundial fez uma estimativa de US\$1 trilhão que a RAM pode acarretar em custos de saúde até 2050 e em perdas no Produto Interno Bruto (PIB) de US\$1 trilhão a US\$3,4 trilhões por ano até 2030 (WHO, 2023).

Em 2024, a OMS publicou uma lista de patógenos bacterianos prioritários, sendo aqueles de maior relevância para a saúde pública e de grande importância na luta contra a resistência antimicrobiana. Entre eles, podemos citar: *Salmonella*, *Shigella*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Em maio de 2015, a Assembleia Mundial da Saúde aprovou um importante plano conhecido como Plano de Ação Global, com o objetivo de enfrentar o desafio crescente da resistência aos antimicrobianos, a fim de garantir que as pessoas continuem tendo acesso a tratamentos eficazes e seguros contra infecções, com medicamentos de qualidade, usados de forma consciente e disponíveis para todos que precisarem (WHO, 2016).

2.3.3 Mecanismos de resistência

Os mecanismos de resistência bacteriana podem ser classificados como intrínsecos, quando a própria estrutura genética da bactéria possui características que a tornam

naturalmente insensível à ação de determinados antimicrobianos, ou como adquiridos, quando o microrganismo obtém material genético que confere essa capacidade de resistência (Abrantes; Nogueira, 2021).

A resistência intrínseca corresponde a uma característica natural de determinadas espécies bacterianas, conferida por fatores genéticos presentes em seu próprio genoma, que as tornam capazes de sobreviver à ação de determinados agentes antimicrobianos. Esse tipo de resistência não resulta da exposição prévia a antibióticos nem da aquisição de genes por meio de transferência horizontal, entre os mecanismos associados estão a baixa afinidade do antimicrobiano pelo seu alvo na célula bacteriana, a limitação da penetração do composto, a presença de bombas de efluxo e a produção de enzimas capazes de inativar ou degradar o antimicrobiano (Kostyanov; Can. 2017).

Quadro 3. Exemplos de bactérias e respectivos antimicrobianos aos quais apresentam resistência intrínseca.

Bactéria	Resistência intrínseca
<i>Bacteroides</i> (anaeróbios)	aminoglicosídeos, muitos β -lactâmicos, quinolonas
Todos os gram-positivos	aztreonam
Enterococos	aminoglicosídeos, cefalosporinas, lincosamidas
<i>Listeria monocytogenes</i>	cefalosporinas
Todos os gram negativos	glicopeptídeos, lipopeptídeos
<i>Escherichia coli</i>	macrolídeos
<i>Klebsiella</i> spp.	ampicilina
<i>Serratia marcescens</i>	macrolídeos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	sulfonamidas, ampicilina, cefalosporinas de primeira e segunda geração, cloranfenicol, tetraciclina
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	aminoglicosídeos, β -lactâmicos,

	carbapenêmicos, quinolonas
<i>Acinetobacter</i> spp.	ampicilina, glicopeptídeos

Fonte: Reygaert, 2018.

A aquisição de genes relacionados à resistência antimicrobiana pode ocorrer por diversas vias utilizadas pelas bactérias para incorporar material genético, incluindo transformação, transposição e conjugação, que são mecanismos de transferência horizontal de genes (HGT), a transferência por plasmídeos é a forma mais comum de entrada de genes de resistência exógenos. As bactérias também podem desenvolver resistência por meio de mutações espontâneas em seu DNA cromossômico (Reygaert, 2018).

Os mecanismos de resistência podem ser divididos em: limitação da captação de um fármaco; modificação de um alvo do fármaco; inativação de um fármaco; efluxo ativo do fármaco. A resistência intrínseca geralmente está associada à limitação da captação, à presença de bombas de efluxo e à capacidade de inativar o fármaco. Já a resistência adquirida envolve a modificação do alvo do antimicrobiano, a inativação do composto ou a ativação de sistemas de efluxo (Reygaert, 2018).

Devido às diferenças estruturais entre gram-positivos e gram-negativos, há variação na utilização desses mecanismos. As bactérias gram-negativas, por possuírem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, conseguem utilizar os quatro mecanismos principais de resistência. Por outro lado, as bactérias gram-positivas, que não possuem essa membrana externa, utilizam com menor frequência o mecanismo de limitação da entrada do fármaco e apresentam restrições quanto a certos tipos de sistemas de efluxo (Reygaert, 2018).

2.3.4 Resistência associada aos biofilmes

A resistência dos biofilmes bacterianos aos agentes antimicrobianos representa uma preocupação relevante na área de alimentos, sendo um fator chave para o desenvolvimento de infecções crônicas e recorrentes por patógenos de importância clínica global (Abebe, 2020). Métodos eficazes contra bactérias em sua forma planctônica, sua ação normalmente é significativamente reduzida em biofilmes (Bridier *et al.*, 2014). Bactérias presentes em biofilmes podem apresentar uma resistência de 10 a 1000 vezes maior aos antibióticos e biocidas quando comparadas às bactérias na fase planctônica (Carrascosa *et al.*, 2021).

A aplicação repetida e incorreta de desinfetantes pode estimular a formação e a tolerância de biofilmes, em vez de eliminá-los, isso acontece devido à seleção de cepas

bacterianas com maior capacidade de formar biofilmes e que exibem maior resistência aos agentes sanitizantes (Yuan *et al.*, 2020). Essa condição pode ser favorecida quando os desinfetantes são usados em concentrações subletais, beneficiando a sobrevivência e adaptação das células (Oliveira; Brugnera; Piccoli, 2010). Além disso, sabe-se que a matriz pode reagir quimicamente com certos desinfetantes, como o hipoclorito de sódio (NaClO), reduzindo ou até mesmo eliminando sua eficácia, especialmente na presença de matéria orgânica residual (Oliveira; Brugnera; Piccoli, 2010).

Essa resistência elevada ocorre por diversos fatores, ganhando destaque a barreira física proporcionada pela matriz extracelular, que dificulta a penetração dos antimicrobianos (Abebe, 2020; Carrascosa *et al.*, 2021). A matriz pode interagir eletrostaticamente com antibióticos de carga positiva, uma vez que são compostas por substâncias de carga negativa, com isso dificultam a fusão pelas camadas do biofilme e limitam sua ação, esses compostos também podem ser adsorvidos pela matriz que acelera sua degradação (Elafify *et al.*, 2024).

Além disso, alterações genéticas favorecem a adaptação bacteriana, incluindo alta taxa de mutação, produção de enzimas inativadoras de antibióticos e presença de bombas de efluxo, que removem os medicamentos das células. Outro mecanismo importante é a geração de células persistentes, metabolicamente inativas, capazes de sobreviver mesmo sob altas concentrações de antibióticos. O ambiente do biofilme também favorece a disseminação da resistência, uma vez que a alta densidade bacteriana na matriz extracelular promove intensa transferência horizontal de genes (HGT) de resistência e virulência entre diferentes microrganismos que sustenta e amplia a diversidade genética, tornando o biofilme um ambiente ideal para o surgimento e manutenção da resistência antimicrobiana (Abebe, 2020). Bactérias nas camadas mais profundas do biofilme apresentam baixa taxa de crescimento e metabolismo, associada à expressão de mecanismos específicos de defesa, aprofundando ainda mais a tolerância ao tratamento (Oliveira; Brugnera; Piccoli, 2010). Nessas camadas, as condições anaeróbicas comprometem a ação de antibióticos, como a tobramicina e a ciprofloxacina, que dependem da presença de oxigênio, adicionalmente esse ambiente ácido pode dificultar a penetração de determinados antimicrobianos (Muhammad *et al.*, 2020).

Os sinais de QS exercem um papel fundamental na regulação da expressão gênica, contribuindo significativamente para o aumento da resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos (Sharahi *et al.*, 2019). Diversos microrganismos têm demonstrado regular processos como a secreção de fatores de virulência, a produção de antibióticos, a esporulação, a motilidade e a formação de biofilmes (Rivas *et al.*, 2018).

A formação de biofilmes por cepas resistentes a antibióticos representa um desafio considerável para a indústria de alimentos e para a saúde pública. A persistência dessas estruturas mesmo após os procedimentos convencionais de limpeza e desinfecção pode resultar em contaminação cruzada em diferentes etapas da cadeia produtiva, comprometendo a segurança microbiológica dos alimentos e facilitando a disseminação de cepas resistentes ao consumidor final. Além disso, essas cepas demonstram maior capacidade de evadir o sistema imunológico, resistir a condições adversas e transferir genes de resistência (Hall; Mah, 2017). Isso significa que um ambiente contaminado pode se tornar um reservatório genético de resistência, perpetuando e disseminando essas características para outras bactérias. Adicionalmente, o biofilme oferece um ambiente propício para a troca horizontal de genes de resistência, o que pode contribuir para a emergência de superbactérias em contextos ambientais, industriais e clínicos (Michaelis; Grohmann, 2023).

Entre os mecanismos de resistência antimicrobiana mais preocupantes na atualidade estão as β -lactamases de espectro estendido (ESBL), enzimas capazes de hidrolisar e inativar antibióticos β -lactâmicos amplamente utilizados na prática clínica. Essas enzimas conferem resistência a uma variedade de cefalosporinas, como cefotaxima (de terceira geração) e cefoxitina (de segunda geração), comprometendo seriamente a eficácia de tratamentos para infecções causadas por bacilos gram-negativos (Nnah *et al.*, 2025).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

Neste trabalho, foram utilizados isolados bacterianos provenientes de diferentes matrizes alimentares e da cadeia de produção de alimentos de origem animal. Esses isolados estavam armazenados no banco de cepas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, vinculado ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. As cepas isoladas analisadas foram selecionadas a partir de dois estudos anteriores desenvolvidos pelo grupo de pesquisa.

Um dos estudos trata-se de uma dissertação de mestrado, na qual se trabalhou com a rastreabilidade de bactérias resistentes a antimicrobianos na cadeia de produção de queijo de leite cru de ovelha, sob a abordagem One Health. As amostras incluídas nesse trabalho foram obtidas a partir de: swabs das mãos dos manipuladores, swabs de prateleiras de maturação dos queijos, fezes dos manipuladores, leite cru de ovelha e queijo.

O outro estudo corresponde a um trabalho de conclusão de curso que trabalhou com a caracterização microbiológica e físico-química de isolados obtidos a partir de linguças coloniais artesanais produzidas no estado de Santa Catarina.

3.2 ISOLAMENTO DE CEPAS

Para isolamento das bactérias, as amostras foram inicialmente incubadas em caldo BHI por 6h a 35°C, posteriormente foram transferidos para caldo BHI suplementado com antimicrobianos (cefotaxima, ertapenem, ciprofloxacino, gentamicina, colistina, vancomicina e cefoxitina), respeitando as concentrações conforme diretrizes estabelecidas pelo Comitê Brasileiro de Resistência Antimicrobiana (BrCAST, 2025). Após a incubação, as amostras foram semeadas em meios seletivos: ágar MacConkey para ordem das *Enterobacterales*, ágar manitol salgado para *Staphylococcus spp.* e ágar bile esculina para *Enterococcus spp.* com discos antimicrobianos inseridos para seleção de colônias resistentes. As colônias que cresceram próximas ao disco, respeitando o halo de inibição preconizado pelo BrCAST (2025) foram selecionadas, foram semeadas em ágar TSA e conservadas a -80°C em BHI com 20% de glicerol.

Para a realização da identificação das espécies bacterianas, foi empregada a técnica de Espectrometria de Massas com Dessorção/Ionização a Laser Assistida por Matriz, com análise por Tempo de Voo (MALDI-TOF MS). Essa metodologia permite a caracterização

molecular por meio da medição da razão massa/carga (m/z) de espécies ionizadas na fase gasosa. É amplamente utilizada na análise de proteínas e peptídeos, além de ser uma ferramenta eficaz na identificação taxonômica de microrganismos.

Após a identificação, os isolados foram submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos por meio do método de disco-difusão, conforme as diretrizes do BrCAST (2025). Para as *Enterobacterales*, foram testados os seguintes antimicrobianos, com suas respectivas concentrações: amicacina (30 μ g) e gentamicina (10 μ g), pertencentes ao grupo dos aminoglicosídeos; amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 μ g), aztreonam (30 μ g), cefepime (30 μ g), cefotaxima (30 μ g), cefoxitina (30 μ g), ceftazidima (30 μ g), ertapenem (10 μ g), imipenem (10 μ g) e meropenem (10 μ g), classificados como beta-lactâmicos; tetraciclina (30 μ g); e ciprofloxacina (5 μ g), pertencente ao grupo das quinolonas. Para os isolados de *Staphylococcus spp.*, foi utilizado apenas o disco de cefoxitina (30 μ g), com o objetivo de identificar cepas resistentes à meticilina. Já os isolados de *Enterococcus spp.* foram avaliados com o disco de vancomicina (5 μ g).

3.2 BIOFILME

3.2.1 Condições de cultivo e crescimento bacteriano

O protocolo de formação de biofilmes bacterianos foi desenvolvido com base nos métodos descritos por Ferreira *et al.* (2012) e Haney; Trimble; Hancock (2021), com adaptações. Os meios de cultivo bacteriano foram preparados conforme as instruções do fabricante, utilizando sempre técnicas assépticas. Todos os componentes foram esterilizados por autoclavação.

As cepas bacterianas previamente isoladas e identificadas foram inicialmente cultivadas em meio líquido TSB (caldo triptona de soja), na concentração recomendada pelo fabricante, a 37 °C por 18 horas. Posteriormente, as culturas foram diluídas na proporção de 1:100 para inoculação nas placas de microtitulação de 96 poços, fabricadas de poliestireno inerte, estéril, livre de DNase, RNase e pirogênio, da marca Kasvi. Para a maioria das cepas, utilizou-se TSB suplementado com 1% (p/v) de glicose (TSB-1% Glc), visando estimular a formação de biofilmes. No entanto, para *Pseudomonas aeruginosa*, foi utilizado o meio TSB sem glicose, com base em ensaios preliminares que indicaram melhor desempenho na adesão bacteriana nessas condições, além do fato de que essa espécie evita o consumo de glicose como fonte primária de carbono, preferindo outras vias metabólicas (Lopes *et al.*, 2023).

Cada isolado foi testado em quadruplicata, com a inclusão de poços controle (em duplicata) contendo apenas o meio de cultura (controle branco). As placas foram incubadas a

37 °C por 20 horas. Após esse período, os sobrenadantes foram cuidadosamente descartados, vertendo-se o conteúdo das placas em recipiente contendo solução de hipoclorito de sódio. Em seguida, uma nova suspensão bacteriana foi preparada com meio fresco e inoculada nos respectivos poços, seguida de nova incubação nas mesmas condições por mais 20 horas. Ao final, a densidade óptica (DO) foi mensurada a 540 nm em leitor de microplacas, utilizando uma multileitora Infinite M200, da marca Tecan, com o objetivo de estimar o crescimento bacteriano em cada poço (Acréscimo).

As cepas testadas neste estudo incluíram: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Niallia circulans*, *Enterococcus mundtii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Proteus hauseri*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, *Citrobacter braakii*, *Enterobacter bugandensis*, *Klebsiella oxytoca*, além de algumas cepas não identificadas.

3.2.2 Lavagem, fixação, coloração, solubilização e determinação do biofilme

Após a leitura inicial da DO, os sobrenadantes foram removidos e os poços lavados suavemente três vezes com água destilada estéril, utilizando uma pipeta Pasteur para remoção das células não aderidas. A água usada nas lavagens foi descartada em recipiente com solução de hipoclorito de sódio a 0,1% (v/v). Em seguida, as placas foram secas e os biofilmes fixados a 65 °C por 1 hora.

Para a coloração, adicionou-se 200 µL de solução de cristal violeta (CV) a 0,1% (p/v) em cada poço, por 30 minutos à temperatura ambiente. O excesso de corante foi removido por meio de lavagens suaves com água destilada estéril (cinco vezes ou até que a solução descartada estivesse incolor). A seguir, o cristal violeta aderido foi solubilizado com 200 µL de etanol 70% (v/v) por aproximadamente 30 minutos. Por fim, a absorbância foi determinada a 540 nm, utilizando-se novamente o leitor de microplacas (Abiofilme).

3.2.3 Interpretação dos resultados

A interpretação dos dados foi realizada com base no estudo de Ferreira *et al.* (2012), considerando os valores de absorbância obtidos nos poços controle sem células (brancos). Dessa forma, os valores finais de densidade óptica (DO) foram expressos como a média aritmética das leituras dos quatro poços, previamente corrigidas pelo valor do branco.

A unidade de biofilme (UB) foi calculada utilizando a fórmula:

$$UB = \text{Abiofilme} / \text{Acrescimento} \quad (1)$$

Os isolados bacterianos foram classificados de acordo com a capacidade de formação de biofilme, utilizando os seguintes critérios: Não aderentes: $BU \leq 0,230$; Fracamente aderentes: $0,230 < BU \leq 0,460$; Moderadamente aderentes: $0,460 < BU \leq 0,920$ e fortemente aderentes: $BU > 0,920$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na relevância da formação de biofilme por cepas resistentes e seu impacto na segurança de alimentos e saúde pública, este estudo avaliou a capacidade de formação de biofilmes de diferentes isolados bacterianos com perfis de resistência antimicrobiana. A Tabela 1 apresenta os dados de maneira condensada, reunindo as espécies bacterianas analisadas, as classificações quanto à formação de biofilme e os respectivos perfis de resistência adquirida e intrínseca aos antibióticos testados anteriormente. Já o quadro 4 detalha individualmente o perfil de cada isolado bacteriano, incluindo o tipo de amostra de origem, a capacidade de formação de biofilme e os antibióticos frente aos quais demonstraram resistência, permitindo uma análise mais minuciosa das características fenotípicas e do potencial de risco associado a cada cepa.

Tabela 1. Capacidade de formação de biofilme pelos isolados bacterianos e perfis de resistência a antibióticos.

Espécie Bacteriana	Número de Isolados	Biofilme (NA* / FA / MA / FA*)	Resistência Adquirida (S / R1 / M)	Resistência Intrínseca (S / R1 / M)
<i>Escherichia coli</i>	48	28 / 4 / 4 / 12	9 / 7 / 32	18 / 25 / 5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0 / 0 / 0 / 1	0 / 0 / 1	0 / 0 / 1
<i>Enterobacter kobei</i>	8	5 / 0 / 2 / 1	4 / 3 / 1	1 / 1 / 6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	2 / 0 / 1 / 2	1 / 1 / 3	1 / 4 / 0
<i>Niallia circulans</i>	1	0 / 0 / 0 / 1	1 / 0 / 0	0 / 0 / 1
<i>Enterococcus mundtii</i>	1	0 / 0 / 0 / 1	1 / 0 / 0	0 / 0 / 1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	0 / 0 / 1 / 1	1 / 1 / 0	0 / 0 / 2

<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0 / 0 / 0 / 1	0 / 1 / 0	0 / 0 / 1
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	2	0 / 0 / 2 / 0	2 / 0 / 0	0 / 0 / 2
<i>Proteus hauseri</i>	2	1 / 0 / 0 / 1	0 / 1 / 1	0 / 1 / 1
<i>Providencia rettgeri</i>	1	1 / 0 / 0 / 0	0 / 1 / 0	0 / 1 / 0
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0 / 0 / 0 / 3	1 / 0 / 2	0 / 2 / 1
<i>Hafnia alvei</i>	2	0 / 0 / 1 / 1	1 / 0 / 1	1 / 1 / 0
<i>Enterobacter asburiae</i>	3	0 / 0 / 0 / 3	2 / 0 / 1	0 / 3 / 0
<i>Enterobacter hormaechei</i>	2	0 / 0 / 0 / 2	0 / 0 / 2	0 / 2 / 0
<i>Enterobacter bugandensis</i>	1	1 / 0 / 0 / 0	0 / 0 / 1	0 / 0 / 1
<i>Citrobacter braakii</i>	1	1 / 0 / 0 / 0	1 / 0 / 0	0 / 1 / 0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0 / 0 / 0 / 1	1 / 0 / 0	1 / 0 / 0
Não identificado	4	3 / 0 / 0 / 1	NA	NA

Legenda: NA*: não aderente; FA: fracamente aderente; MA: moderadamente aderente; FA*: fortemente aderente; S: sensível; R1: resistente a apenas um antibiótico; M: resistente a mais de um antibiótico (multirresistente); NA: não se aplica.

Fonte: Autora (2025).

Quadro 4. Perfil dos Isolados Bacterianos: Tipo de Amostra, Formação de Biofilme e Resistência Antimicrobiana

Espécie Bacteriana	Tipo de Amostra	Biofilme	Resistência Adquirida	Resistência Intrínseca
<i>Escherichia coli</i>	Leite	Não Aderente	CIP e TET	VAN
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Leite	Fortemente Aderente	CAZ, IPM e MER	CTX, FOX, ERT, TET e GEN
<i>Enterobacter kobei</i>	Leite	Não Aderente	SR	FOX e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Queijo (Casca)	Não Aderente	CIP, TET e GEN	VAN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Queijo (Casca)	Fortemente Aderente	TET	VAN
<i>Enterobacter kobei</i>	Queijo (Casca)	Não Aderente	CTX	FOX, VAN
<i>Enterobacter kobei</i>	Queijo (Interior)	Moderadamente Aderente	CAZ, ATM e ERT	FOX e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Queijo (Interior)	Não Aderente	CIP e TET	VAN
<i>Enterobacter kobei</i>	Queijo (Interior)	Moderadamente Aderente	SR	FOX e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Aprisco	Não Aderente	CTX, ATM, FEP e TET	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Aprisco	Fracamente Aderente	CTX, ATM, FEP, TET e GEN	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Aprisco	Moderadamente Aderente	CIP e TET	VAN
<i>Niallia circulans</i>	Aprisco	Fortemente Aderente	SR	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM,

				ERT, MER, CIP, TET, AMI, GEN e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Prateleira	Não Aderente	SR	VAN
<i>Enterococcus mundtii</i>	Prateleira	Fortemente Aderente	SR	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI e GEN
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Mão (Colaborador 1)	Moderadamente Aderente	FOX	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI, GEN e VAN
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Mão (Colaborador 2)	Fortemente Aderente	SR	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI, GEN e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 1)	Não Aderente	SR	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 1)	Não Aderente	SR	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 2)	Fortemente Aderente	CIP	TET e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 2)	Fortemente Aderente	SR	VAN

<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 2)	Fracamente Aderente	SR	TET e VAN
<i>Enterobacter kobei</i>	Fezes (Colaborador 2)	Não Aderente	SR	FOX e VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 3)	Não Aderente	CTX, ATM e CIP	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 3)	Não Aderente	CTX, CAZ, ATM, FEP, CIP e TET	VAN
<i>Escherichia coli</i>	Fezes (Colaborador 3)	Fortemente Aderente	TET	VAN
<i>Enterococcus faecalis</i>	Fezes (Colaborador 3)	Fortemente Aderente	VAN	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI e GEN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fezes (Colaborador 4)	Não Aderente	CTX, CAZ, ATM, FEP, CIP, TET e GEN	VAN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fezes (Colaborador 4)	Não Aderente	CTX, CAZ, ATM, FEP, CIP e TET	VAN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fezes (Colaborador 4)	Moderadamente Aderente	CTX, CAZ, ATM, FEP, CIP, TET e GEN	VAN

<i>Enterobacter kobei</i>	Fezes (Colaborador 4)	Não Aderente	SR	FOX e VAN
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	Queijo (Casca)	Moderadamente Aderente	SR	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI, GEN e VAN
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	Queijo (Interior)	Moderadamente Aderente	SR	CTX, CTC, CAZ, CAL, ATM, FEP, FOX, IPM, ERT, MER, CIP, TET, AMI, GEN e VAN
<i>Proteus hauseri</i>	Linguiça Colonial	Não Aderente	TET	CIP
<i>Escherichia coli</i>	Linguiça Colonial	Fracamente Aderente	TET, CIP e GEN	CAZ
Não identificado	Linguiça Colonial	Não Aderente	NA	NA
<i>Providencia rettgeri</i>	Linguiça Colonial	Não Aderente	ATM	TET
<i>Escherichia coli</i>	Linguiça Colonial	Não Aderente	TET e CIP	SR
Não identificado	Linguiça Colonial	Não Aderente	NA	NA
<i>Proteus mirabilis</i>	Linguiça Colonial	Fortemente Aderente	CIP, GEN e AMI	TET
<i>Hafnia alvei</i>	Linguiça Colonial	Fortemente Aderente	CAL, CIP e GEN	TET
<i>Enterobacter asburiae</i>	Linguiça Colonial	Fortemente Aderente	SR	FOX

<i>Enterobacter kobei</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CIP	FOX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX, FEP, TET e ATM	CAZ
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET	CIP
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fracamente Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX	CAZ, FEP, IPM e ATM
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	SR	SR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	SR	SR
<i>Hafnia alvei</i>	Linguíça Colonial	Moderadamente Aderente	SR	SR
Não identificado	Linguíça Colonial	Não Aderente	NA	NA
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CTX, CAZ, CAL, FEP, ERT e ATM	FOX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET e GEN	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	TET e CIP	CTX

<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX, FEP, TET e CIP	CAZ e ATM
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX, TET, CIP, GEN, AMI e ATM	FEP
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX, FEP, TET, CIP, GEN, AMI e ATM	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	SR	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	TET	CIP
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET, CIP e GEN	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	FEP, TET e CIP	CTX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	TET, CIP e GEN	SR
<i>Proteus hauseri</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CTX, FEP, ERT, MER, CIP, GEN e ATM	FOX, IPM e TET
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	FOX	SR

<i>Proteus mirabilis</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CAL, FEP, ERT e ATM	CTX, TET e CIP
<i>Proteus mirabilis</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	SR	FEP e TET
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CIP e GEN	TET
<i>Enterobacter asburiae</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	SR	FOX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	SR	SR
<i>Citrobacter braakii</i>	Linguíça Colonial	Fracamente Aderente	SR	FOX
<i>Enterobacter bugandensis</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CAZ, CAL, FEP, ERT, GEN, AMI e ATM	FOX, TET e CIP
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	SR	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Moderadamente Aderente	CTX, FEP e TET	AMI
<i>Enterobacter kobei</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	FOX	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	CTX, FEP, TET, CIP, GEN, AMI e ATM	CAZ
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	TET, CIP e GEN	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CIP e GEN	TET

<i>Enterobacter asburiae</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CTX e CAL	FOX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Moderadamente Aderente	TET e GEN	SR
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	CTX, CAZ, CAL, FEP, ERT e ATM	FOX
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Moderadamente Aderente	TET e CIP	SR
<i>Escherichia coli</i>	Linguíça Colonial	Não Aderente	TET e CIP	SR
Não identificado	Linguíça Colonial	Fortemente Aderente	NA	NA

Legenda: CTX: Cefotaxima; CTC: Cefotaxima + Ácido Clavulânico; CAZ: Ceftazidima; CAL: Ceftazidima + Ácido Clavulânico; FOX: Cefoxitina; FEP: Cefepima; ERT: Ertapenem; MER: Meropenem; IPM: Imipenem; TET: Tetraciclina; CIP: Ciprofloxacina; GEN: Gentamicina; AMI: Amicacina; ATM: Aztreonam; VAN: Vancomicina; SR: sem resistência; NA: Não se aplica.

Fonte: Autora (2025).

As cepas de *Escherichia coli*, uma bactéria de bacilo gram-negativo pertencente à família *Enterobacteriaceae*, são reconhecidas como indicadores de práticas higiênicas na cadeia de produção de alimentos e na vigilância da qualidade da água, devido à sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (Sadeghzadeh et al., 2024). Trata-se de uma bactéria comensal do trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente que pode se tornar patogênica ao adquirir genes de virulência, sendo uma das principais causadoras de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Brasil (Menck-Costa et al., 2023). Diversos patótipos de *E. coli* são reconhecidos por seu potencial

diarreogênico (DEC), cada um identificado por genes específicos de virulência: *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), enteropatogênica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), produtora de toxina Shiga (STEC) e enteroagregativa (EAEC). Podem causar desde quadros leves de diarreia até condições graves, como a síndrome hemolítico-urêmica, com risco de óbito (Menck-Costa *et al.*, 2023).

Entre as quarenta e oito cepas de *E. coli* isoladas de leite, queijo (casca e interior), aprisco, prateleira, fezes e linguiça colonial, observou-se predominância de isolados não aderentes à formação de biofilme (n = 28), seguidos por fortemente aderentes (n = 12), moderadamente aderentes (n = 4) e fracamente aderentes (n = 4). Em relação à resistência adquirida, apenas nove cepas foram sensíveis a todos os antibióticos testados, enquanto sete apresentaram resistência a um único antibiótico e trinta e duas foram classificadas como multirresistentes. Quanto à resistência intrínseca, dezoito cepas não apresentaram esse tipo de resistência, vinte e cinco demonstraram resistência a um antibiótico e cinco a múltiplos antimicrobianos. Esses dados indicam uma relação preocupante entre a capacidade de formação de biofilmes e a resistência antimicrobiana, uma vez que cepas fortemente aderentes frequentemente apresentaram resistência adquirida a antibióticos amplamente utilizados como tetraciclina, ciprofloxacino e gentamicina, além de resistência intrínseca a antimicrobianos como cefotaxima e cefoxitina.

Dentre as 20 cepas formadoras de biofilme, quatro apresentam resistência a cefalosporinas de terceira geração, o que representa um alerta importante. A nova lista de patógenos bacterianos prioritários (BPPL) da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024) destaca microrganismos que representam sérias ameaças à saúde pública global, especialmente devido à crescente resistência a antimicrobianos considerados de última linha. Entre os grupos classificados como prioridade crítica estão os *Enterobacterales* resistentes a cefalosporinas de terceira geração e a carbapenêmicos, devido ao seu impacto clínico e à limitação de opções terapêuticas. Nesse contexto, essas cepas se enquadram diretamente neste grupo.

No caso das infecções do trato urinário (ITUs), *E. coli* é o principal agente etiológico. As fluoroquinolonas (FQs), como o ciprofloxacino, um antibiótico de segunda geração, são frequentemente utilizadas no tratamento desses quadros. No entanto, o uso indiscriminado desses antibióticos, especialmente em ambientes ambulatoriais, tem contribuído para o aumento da resistência, comprometendo sua eficácia terapêutica e representando uma ameaça crescente à saúde pública global (Tewawong *et al.*, 2025).

Enterobacter kobei, anteriormente designada como Grupo NIH 21, é uma bactéria

pertencente ao gênero *Enterobacter* e à família *Enterobacteriaceae*, trata-se de bacilos gram-negativos. Apresentam ampla distribuição e tem sido frequentemente isolada de amostras clínicas, como sangue, escarro, garganta e urina, além de também ser encontrada em alimentos (Kosako *et al.*, 1996). Assim como outras espécies do gênero, é considerada onipresente no ambiente e sua presença no trato intestinal de animais contribui para sua disseminação em solos, águas e vegetais. Em humanos, pode atuar como um patógeno oportunista, estando potencialmente envolvida em infecções nosocomiais, incluindo infecções do trato urinário, colecistite, osteomielite e meningite neonatal (Nazir *et al.*, 2018).

No presente estudo, oito isolados de *Enterobacter kobei*, provenientes de amostra de leite, queijo (casca e interior), fezes e linguiça colonial, foram avaliados. Desses, cinco foram não aderentes à formação de biofilme, dois aderiram moderadamente e um aderiu fortemente. Quatro cepas são sensíveis a todos os antibióticos testados, três apresentam resistência adquirida a um antibiótico e uma é multirresistente. Seis mostram resistência intrínseca a múltiplos antimicrobianos.

Entre as cepas com capacidade de formação de biofilme, aquela classificada como fortemente aderente também apresentou resistência adquirida à ciprofloxacina, e resistência intrínseca à cefoxitina, uma cefalosporina de segunda geração. Uma das cepas moderadamente aderentes não apresentou resistência adquirida, mas foi intrinsecamente resistente à cefoxitina e à vancomicina. A outra cepa moderadamente aderente apresentou resistência adquirida a três antibióticos β -lactâmicos clinicamente importantes, a ceftazidima (cefalosporina de terceira geração), aztreonam (monobactâmico) e ertapeném (carbapenêmico), que são antibióticos de escolha no tratamento de infecções hospitalares graves causadas por bacilos gram-negativos. Além de resistência intrínseca à cefoxitina e à vancomicina.

Esses resultados refletem uma das principais preocupações em relação à espécie *E. kobei*: sua capacidade de adquirir genes de resistência antimicrobiana clinicamente relevantes, como os que codificam ESBLs e carbapenemases (Vásquez-Ponce; Barbieri; Lincopan, 2025). Esses mecanismos de resistência comprometem a eficácia de diversas classes de antibióticos β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos, dificultando significativamente o tratamento de infecções causadas por essas cepas.

Além do mais, o isolado de *Enterobacter kobei* resistente à ceftazidima (3ª geração) e ao ertapeném (carbapenêmico), estão no grupo de Prioridade Crítica (OMS BPPL).

Espécies do gênero *Klebsiella* são amplamente distribuídas no ambiente, sendo comumente encontradas em alimentos e água, especialmente em leite não pasteurizado. No

contexto alimentar, *Klebsiella pneumoniae* pode atuar como agente enteropatogênico devido à sua capacidade de produzir enterotoxinas termoestáveis e termolábeis. Também, a colonização inicial do trato gastrointestinal pode evoluir para infecções sistêmicas (FDA, 2012). Trata-se de uma bactéria gram-negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae*, considerada uma bactéria oportunista, frequentemente associada a infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos ou com dispositivos médicos implantados (Sousa *et al.*, 2019). É uma das principais causadoras de infecções da corrente sanguínea em adultos, com maior incidência em idosos com comorbidades. Cepas produtoras de β -lactamases de espectro estendido e carbapenemases têm sido associadas a maiores taxas de mortalidade em pacientes críticos, muitas vezes em razão do atraso no início de um tratamento antibiótico eficaz (Fostervold *et al.*, 2024).

A emergência de cepas multirresistentes de *K. pneumoniae* (MDR-Kp) agrava ainda mais esse cenário, especialmente em ambientes hospitalares, onde é responsável por infecções graves como pneumonia, septicemia e infecções do trato urinário. A resistência a múltiplas classes de antibióticos, incluindo os carbapenêmicos, considerados de última linha, tem limitado drasticamente as opções terapêuticas disponíveis, contribuindo para o aumento da mortalidade (Shahimi *et al.*, 2025).

Dentre as cinco cepas de *K. pneumoniae*, isoladas de queijo (casca), fezes e linguiça colonial, duas foram não aderentes, uma moderadamente aderente e duas fortemente aderentes. Três delas foram multirresistentes (MDR), ou seja, resistentes a pelo menos três classes diferentes de antimicrobianos, com destaque para uma cepa moderadamente aderente que mostra resistência adquirida a sete antibióticos clinicamente relevantes: cefotaxima, ceftazidima, aztreonam, cefepima (todos β -lactâmicos), ciprofloxacino (fluoroquinolona), tetraciclina (tetraciclina) e gentamicina (aminoglicosídeo), além de resistência intrínseca à vancomicina (glicopeptídeo). Entre os isolados fortemente aderentes, uma cepa apresentou resistência adquirida à tetraciclina e resistência intrínseca à vancomicina, enquanto a outra não demonstrou resistência nos testes realizados.

Destaca-se os antibióticos mais críticos associados à resistência por essas cepas, que inclui as cefalosporinas de gerações avançadas, como a cefepima, uma cefalosporina de quarta geração com amplo espectro de ação contra bacilos gram-negativos, e a cefotaxima, uma cefalosporina de terceira geração frequentemente usada no tratamento de infecções graves. Conforme a Lista de Patógenos Bacterianos Prioritários (BPPL) da OMS (2024), a *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de terceira geração se enquadram como bactérias de prioridade crítica. As infecções causadas por elas foram associadas a maior mortalidade,

maior tempo de internação e mais custos econômicos (Zhen *et al* 2020). O uso excessivo e muitas vezes inadequado de cefalosporinas de terceira geração contribuiu com o surgimento e pela disseminação dos genes de ESBL em *Klebsiella pneumoniae*. Esse padrão de resistência tem se intensificado paralelamente ao aumento no consumo de antibióticos de amplo espectro, comprometendo a eficácia terapêutica desses antibióticos em ambientes clínicos (Banerjee *et al.*, 2016). Além disso, mesmo cefalosporinas de quarta geração, como a cefepima, que foi desenvolvida para resistir melhor à degradação por β -lactamases e apresentar amplo espectro de ação contra bactérias gram-negativas têm apresentado falhas terapêuticas frente a cepas multirresistentes, o que reforça a gravidade do problema.

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, pertencente à família *Pseudomonadaceae*, é um patógeno oportunista de ampla distribuição ambiental, frequentemente associada a infecções crônicas ou recorrentes em indivíduos com doenças respiratórias, como fibrose cística, queimaduras, imunodeficiência, doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer e infecção grave que requer ventilação (Qin *et al.*, 2022). Após longos períodos de exposição a antibióticos, *P. aeruginosa* pode desenvolver resistência adquirida, originando clones de alto risco multirresistentes. Um dos principais mecanismos envolvidos nessa resistência é a superexpressão de bombas de efluxo do tipo multidroga, que reduzem a concentração intracelular de diversos antimicrobianos, comprometendo a eficácia dos antibióticos (Rosa; Molin; Johanse, 2025).

A cepa de *Pseudomonas aeruginosa* isolada da amostra de leite apresentou forte capacidade de formação de biofilme. Além disso, possui um perfil preocupante de resistência antimicrobiana, com resistência adquirida a ceftazidima, imipenem e meropenem, que são antimicrobianos de uso clínico relevante, e resistência intrínseca a cefotaxima, cefoxitina, ertapenem, tetraciclina e gentamicina. Sendo relevante destacar a resistência para imipenem e meropenem, ambos carbapenêmicos de amplo espectro, são considerados última linha de defesa contra infecções por bacilos gram-negativos multirresistentes.

Reconhecendo a gravidade dessa ameaça, a OMS incluiu *Pseudomonas aeruginosa* na lista de patógenos bacterianos prioritários publicada em 2024, estando no grupo de prioridade alta aquelas que possuem resistência aos carbapenêmicos. Além disso, foi evidenciado o alto impacto fatal dessas cepas, principalmente em indivíduos imunocomprometidos e em ambientes de saúde

O isolado de *Niallia circulans* pertencente à família *Bacillaceae*, proveniente do aprisco, apresentou forte adesão de biofilme e detém sensibilidade a todos os antibióticos testados quanto à resistência adquirida, mas possui resistência intrínseca a diversas classes de

antibióticos. A mesma situação foi observada para *E. mundtii* da família *Enterococcaceae*, que foi isolado da prateleira de maturação dos queijos. Embora essas bactérias não tenham adquirido resistência por exposição a antibióticos, a resistência intrínseca múltipla é clinicamente preocupante, pois indica que caso venham a causar infecções, as opções de tratamento já estarão naturalmente limitadas e podem atuar como reservatórios genéticos de resistência, facilitando a disseminação desses genes. *E. faecalis* também pertencente a família *Enterococcaceae*, proveniente da amostra de fezes, demonstrou forte adesão, possui resistência adquirida à vancomicina e multirresistência intrínseca.

A presença de *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) representa um desafio no controle de infecções hospitalares. Esses microrganismos, gram-positivos, fazem parte da microbiota comensal do trato gastrointestinal humano. No entanto, podem atuar como patógenos oportunistas, sendo responsáveis por infecções como ITU, infecções intra-abdominais, bacteremia e endocardite. O VRE, além de causar infecção, pode permanecer como colonizador assintomático, o que dificulta a tomada de decisão clínica quanto ao início do tratamento antimicrobiano. Ainda assim, infecções causadas por cepas resistentes à vancomicina estão associadas a maiores índices de mortalidade e aumento nos custos hospitalares, quando comparadas aos isolados sensíveis (Levitus; Rewane; Perera, 2023).

Para *S. haemolyticus* (família *Staphylococcaceae*), foram isoladas duas cepas, ambas das mãos dos colaboradores: uma moderadamente aderente, com resistência adquirida à cefoxitina e multirresistência intrínseca, e outra fortemente aderente, sem resistência adquirida detectada, mas com perfil intrínseco semelhante. *Staphylococcus haemolyticus* é um componente predominante da microbiota da pele humana, sendo amplamente encontrado em ambientes hospitalares e entre profissionais de saúde. Essa ampla distribuição tem contribuído para seu reconhecimento como um patógeno emergente associado a infecções nosocomiais (Eltwisy *et al.*, 2022). Assim, a presença na pele de manipuladores, associada à sua capacidade de formar biofilme e resistência, especialmente a resistência intrínseca, é um ponto de atenção do ponto de vista da segurança dos alimentos e da saúde pública.

As duas cepas de *Cellulosimicrobium cellulans*, bactérias gram-positivas da família *Promicromonosporaceae*, são comumente encontradas no ambiente, como esgoto e solo. Apesar de raramente associadas a infecções em humanos, são consideradas patógenos oportunistas (Ioannou; Vorria; Samonis, 2024). Essas cepas, isoladas de amostra de queijo (casca e interior), foram classificadas como moderadamente aderentes e são sensíveis aos antibióticos testados, mas apresentam resistência intrínseca múltipla, o que representa um

desafio clínico, especialmente em infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos. Portanto, mesmo não sendo patógenos primários, essas bactérias podem causar infecções e atuar como reservatórios naturais de resistência.

O gênero *Proteus* trata-se de bactérias gram-negativas da família *Enterobacteriaceae*, são patógenos oportunistas, frequentemente envolvido em infecções nosocomiais, embora não haja uma forte correlação com surtos de DTA. No entanto, sua presença em alimentos está associada à deterioração, uma vez que são capazes de metabolizar aminoácidos presentes em carnes e gerar compostos de putrefação. Em pescados, como o atum, é reconhecido como microrganismo produtor de histamina, podendo ocasionar intoxicação escombroides em condições favoráveis (FDA, 2012).

No caso de *Proteus hauseri*, dos dois isolados de língua colonial, um não aderiu e o outro aderiu fortemente. Esse último apresenta multirresistência adquirida a diversos antibióticos, incluindo cefotaxima, cefepime (cefalosporinas de 3ª e 4ª geração), ertapenem e meropenem (carbapenêmicos), ciprofloxacino (fluoroquinolona), gentamicina (aminoglicosídeo) e aztreonam (monobactâmico), e resistência intrínseca a diferentes classes de antibióticos, incluindo carbapenêmicos. A resistência a cefalosporinas de gerações avançadas e a carbapenêmicos é particularmente preocupante do ponto de vista clínico, pois são considerados antibióticos de última linha no tratamento de infecções graves por bactérias multirresistentes. A resistência simultânea a várias classes, configura um perfil de multirresistência alarmante, limitando drasticamente as opções terapêuticas, além da preocupação quanto ao potencial de disseminação horizontal de genes de resistência para patógenos humanos, o que representa um risco relevante à saúde pública.

P. rettgeri foi representada por uma única cepa não aderente, com resistência adquirida e intrínseca a um antibiótico cada.

Já *Proteus mirabilis*, isolada a partir de amostras de língua colonial, apresentou forte capacidade de aderência em todas as três cepas analisadas. No que se refere à resistência antimicrobiana, as três cepas analisadas demonstram perfis variados. Uma das cepas apresenta resistência adquirida a ciprofloxacino, gentamicina e amicacina, associada à resistência intrínseca à tetraciclina, indicando comprometimento da eficácia de duas classes amplamente utilizadas na prática clínica: fluoroquinolonas e aminoglicosídeos. A segunda cepa demonstra um perfil ainda mais preocupante, com resistência adquirida a ceftazidima, cefepime, ertapenem e aztreonam, além de resistência intrínseca à cefotaxima, tetraciclina e ciprofloxacino. Esse perfil se aproxima daquele observado em *Proteus hauseri*, representando um caso de multirresistência, com destaque aos antibióticos de última linha, que limita

significativamente as opções terapêuticas, ambos são integrantes do grupo de prioridade crítica, segundo a OMS. A terceira cepa, apesar de não apresentar resistência adquirida detectada, exibe resistência intrínseca ao cefepime e à tetraciclina, essa resistência justifica sua participação no grupo de Prioridade Crítica (OMS BPPL).

A presença de cepas altamente resistentes de *Proteus* em alimentos de origem animal, como as identificadas neste estudo, representa uma grave ameaça à saúde pública, devido à possibilidade de transferência de genes de resistência para outros patógenos humanos através da cadeia alimentar.

Hafnia alvei é uma bactéria gram-negativa classificada na recém-proposta família Hafniaceae, pertencente à ordem *Enterobacterales*, amplamente presente em diferentes ambientes, como rios e criadouros de peixes, além de áreas contaminadas como esgotos e águas poluídas. Também compõe a microbiota intestinal de diversos animais e, em alguns casos, pode estar envolvida em infecções oportunistas, especialmente em indivíduos com comorbidades (Ramos-Vivas *et al.*, 2022).

Embora seja raramente considerada patogênica, já foram observadas uma relação com *Escherichia coli* enteropatogênica em razão da presença de um fator de virulência comum. Pode estar envolvida em nosocomiais, principalmente em pacientes com condições clínicas subjacentes. Frequentemente, é isolada em cocultivo com outros bacilos gram-negativos, o que pode estar relacionado à sua origem na microbiota intestinal endógena. O tratamento dessas infecções costuma ser eficaz quando guiado por testes de suscetibilidade antimicrobiana. Em quadros mais graves, recomenda-se o uso de imipenem ou uma cefalosporina de terceira geração associada a um aminoglicosídeo (Giinthard; Andreas Pennekamp, 1996). Além do aspecto clínico, a espécie tem ganhado atenção por sua atuação em alimentos fermentados, como queijos, devido à produção de compostos bioativos que modulam sabor e aroma. No entanto, seu potencial benéfico na tecnologia de alimentos contrasta com os riscos associados a cepas resistentes (Ramos-Vivas *et al.*, 2022).

No presente estudo, foram avaliadas quanto à sua capacidade de formar biofilme duas cepas de *Hafnia alvei* provenientes de linguiça colonial. Uma das cepas apresentou forte aderência e resistência adquirida a ceftazidima (cefalosporina de terceira geração), ciprofloxacino (fluoroquinolona) e gentamicina (aminoglicosídeo), além de resistência intrínseca à tetraciclina. A resistência simultânea a antimicrobianos críticos como ceftazidima e gentamicina é preocupante, pois limita significativamente as opções terapêuticas para infecções graves causadas por *H. alvei*. Apesar de estar menos frequentemente associada a infecções, a resistência a cefalosporinas de terceira geração justifica sua inclusão na lista de

patógenos prioritários da OMS (BPPL), destacando sua importância no contexto de saúde pública.

Enterobacter é um gênero de bactérias gram-negativas, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Essas bactérias estão amplamente presentes em diversos ambientes naturais, como água, solo, esgoto e vegetais, além de integrarem a microbiota normal de seres humanos saudáveis. Apesar de muitas vezes serem inofensivas, podem atuar como agentes patogênicos oportunistas, especialmente em indivíduos com o sistema imunológico comprometido. Quando associadas à contaminação de alimentos, podem causar quadros de gastroenterite, com sintomas como diarreia aquosa, náusea, vômito, dor abdominal, febre e calafrios (FDA, 2012; Ramírez; Giron, 2023). Além disso, espécies de *Enterobacter* têm importância clínica significativa por estarem envolvidas em infecções hospitalares, incluindo infecções urinárias, respiratórias, de pele e tecidos moles, osteomielite e endocardite. Seu papel como patógeno nosocomial reforça a necessidade de uma abordagem interprofissional no diagnóstico e no tratamento adequado dessas infecções, considerando também o risco de resistência antimicrobiana associado a esses microrganismos (Ramírez; Giron, 2023).

Os três isolados de *Enterobacter asburiae* proveniente de amostras de linguiça colonial foram fortemente aderentes, nos quais dois são sensíveis quanto à resistência adquirida, enquanto um apresenta resistência à cefotaxima e ceftazidima, todos possuem resistência intrínseca à cefoxitina. Essa resistência intrínseca à cefoxitina, um antibiótico da classe das cefamicinas, sugere um mecanismo basal de defesa da bactéria, que pode ser agravado por pressões seletivas ambientais, como o uso indiscriminado de antibióticos na produção animal.

Por outro lado, *Enterobacter hormaechei* apresentou um perfil de resistência ainda mais alarmante, com dois isolados provenientes de amostras de linguiça colonial resultando em fortes aderentes de biofilme, demonstram multirresistência adquirida a importantes classes de antibióticos, incluindo cefalosporinas de terceira e quarta geração (cefotaxima, ceftazidima, cefepime), carbapenêmicos (ertapenem) e monobactâmicos (aztreonam), além da resistência intrínseca à cefoxitina. A presença de resistência simultânea a diferentes classes, incluindo carbapenêmicos, indica a possível produção de enzimas como ESBL ou carbapenemases, que comprometem seriamente o arsenal terapêutico disponível. Dessa forma, a resistência combinada a cefalosporinas de terceira geração justifica a inclusão de *Enterobacter hormaechei* na lista de patógenos prioritários da OMS.

A única cepa de *Enterobacter bugandensis*, isolada de linguiça colonial não houve adesão de biofilme, porém apresenta multirresistência adquirida e intrínseca.

O isolado de *C. braakii*, proveniente da amostra de linguiça colonial, resultou em não aderente, e conforme estudos realizados anteriormente, consiste em uma cepa sensível, com exceção de uma resistência intrínseca pontual. E por fim, o isolado de *K. oxytoca*, proveniente da amostra de linguiça colonial foi fortemente aderente e possui sensibilidade tanto à resistência adquirida quanto à intrínseca.

Ressalta-se que a formação de biofilme pode variar entre passagens bacterianas, em decorrência da transição de fases fisiológicas. Essa oscilação fenotípica está relacionada à adaptação metabólica das bactérias frente a diferentes condições ambientais e pode impactar diretamente os resultados obtidos em ensaios de adesão.

A presença de cepas bacterianas multirresistentes (MDR) com alta capacidade de formação de biofilmes em ambientes de produção de alimentos representa uma séria ameaça à saúde pública. Essas cepas, ao se aderirem a superfícies industriais, persistem mesmo após procedimentos convencionais de higienização, favorecendo a disseminação horizontal de genes de resistência, inclusive para microrganismos inicialmente sensíveis. Esse cenário contribui para a contaminação cruzada ao longo da cadeia produtiva e dificulta o controle microbiológico.

Os dados obtidos neste estudo evidenciam a presença de isolados com resistência a antibióticos de uso clínico relevante, como tetraciclina, ciprofloxacino, gentamicina, cefotaxima, ceftazidima, cefepime, aztreonam, ertapenem, meropenem e vancomicina, agentes fundamentais no tratamento de infecções humanas. A disseminação de mecanismos de resistência, como a produção de carbapenemases, agrava ainda mais esse quadro, essas enzimas, codificadas por genes móveis como plasmídeos e transposons, são capazes de inativar carbapenêmicos e outros beta-lactâmicos e facilitam sua disseminação horizontal.

Diante disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou as enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos (ERC) como patógenos críticos de prioridade global, devido à alta mortalidade associada e à escassez de alternativas terapêuticas. Essa classificação reflete a urgência em conter a resistência antimicrobiana (RAM), que compromete tanto a eficácia dos tratamentos quanto às estratégias de prevenção e controle, uma vez que as opções terapêuticas são escassas e há poucos medicamentos promissores em desenvolvimento, tornando o manejo dessas infecções um grande desafio. Mesmo os patógenos listados como de alta prioridade, embora não críticos, exigem atenção contínua, especialmente em ambientes como a indústria de alimentos, onde podem atuar como reservatórios e vetores silenciosos de resistência.

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Com base nos resultados obtidos, é recomendável que estudos futuros aprofundem a caracterização das cepas analisadas. A identificação de genes de virulência e resistência, bem como a determinação da localização desses genes, especialmente se presentes em plasmídeos, que facilitam a transferência horizontal entre bactérias, poderá contribuir significativamente para a compreensão dos mecanismos envolvidos na persistência e disseminação desses microrganismos. Avaliar a relação genética entre os isolados também pode indicar se há clonagem entre eles ou se se tratam de linhagens distintas. Além disso, a utilização de técnicas de microscopia, como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), permitiria a visualização e análise estrutural dos biofilmes formados, elucidando aspectos importantes da aderência e organização celular. Outras abordagens, como testes de expressão gênica, ensaios em diferentes superfícies de contato e condições ambientais simuladas, também são relevantes para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes na indústria de alimentos.

6 CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou a preocupante associação entre resistência antimicrobiana e capacidade de formação de biofilmes em cepas bacterianas isoladas de alimentos e da cadeia de produção. A presença de microrganismos fortemente aderentes e multirresistentes a antibióticos de uso clínico relevante representa uma ameaça significativa à segurança dos alimentos e à saúde pública, especialmente em um cenário global de crescente resistência antimicrobiana.

Das 89 cepas bacterianas analisadas, 32 (35,9%) foram classificadas como fortemente aderentes, das quais 21 apresentam resistência adquirida a pelo menos um antibiótico e 3 não apresentaram nenhum tipo de resistência. Entre as 11 cepas classificadas como moderadamente aderentes (12,3%), 7 apresentam resistência adquirida e apenas uma não demonstrou perfil de resistência. Esses achados reforçam o potencial risco que cepas resistentes e formadoras de biofilme representam no contexto da produção e manipulação de alimentos.

A presença de cepas de origem alimentar, formadoras de biofilme e resistentes a antibióticos representam ameaças tanto à segurança dos alimentos quanto à saúde pública. Essas cepas reduzem significativamente as opções terapêuticas disponíveis, tornando os tratamentos limitados ou ineficazes, podendo levar a infecções persistentes e de difícil tratamento.

Além disso, a identificação de cepas formadoras de biofilme provenientes de amostras das mãos e fezes de manipuladores reforça a importância das BPFs. Uma das formas mais eficazes de evitar que microrganismos resistentes e formadores de biofilme se mantenham e se disseminem no ambiente produtivo é justamente por meio da correta implementação dessas práticas. Quando aplicadas adequadamente, as BPF contribuem não apenas para impedir a contaminação cruzada e a disseminação bacteriana, mas também para prevenir a formação de biofilmes. E mesmo quando essas estruturas se formam, uma rotina eficiente de higienização é essencial para sua remoção eficaz.

Adicionalmente, é importante destacar que cepas formadoras de biofilme e resistentes a antibióticos, mesmo quando não classificadas como patogênicas, representam uma preocupação significativa. Essas bactérias podem atuar como reservatórios de genes de resistência e favorecer sua transferência para bactérias patogênicas. A estrutura do biofilme facilita esse processo ao proporcionar um ambiente denso e protegido, no qual diferentes espécies bacterianas convivem em proximidade, aumentando as chances de troca genética.

Nesse sentido, torna-se essencial que as indústrias de alimentos adotem estratégias eficazes de monitoramento e controle microbiológico. Investimentos em tecnologias de limpeza e sanitização mais eficientes, capacitação de colaboradores e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos são fundamentais. Além disso, a integração do conceito de *One Health*, que reconhece a interconexão entre saúde humana, animal e ambiental, deve orientar políticas públicas, ações regulatórias e boas práticas em toda a cadeia de produção de alimentos, promovendo o uso racional de antimicrobianos e reduzindo os riscos de disseminação da resistência.

Portanto, os resultados deste estudo reforçam a necessidade de um controle rigoroso dos biofilmes, mesmo quando não patogênicos, como forma de conter a disseminação de genes de resistência e proteger tanto a saúde pública quanto a qualidade e segurança dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- Abebe, G. M. The Role of Bacterial Biofilm in Antibiotic Resistance and Food Contamination. **International Journal of Microbiology**, v. 2020, n. 1, 2020. DOI 10.1155/2020/1705814. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2020/1705814>. Acesso em: 12 abr. 2025.
- Abrantes, J. A.; Nogueira, J. M. R. Resistência bacteriana aos antimicrobianos: uma revisão das principais espécies envolvidas em processos infecciosos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 3, p. 219-223, 2021. DOI 10.21877/2448-3877.202102156. Disponível em: https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2022/03/RBAC-vol-53-3-2021_artigo02.pdf. Acesso em: 24 jun. 2025.
- Bai, X.; Nakatsu, C. H.; Bhunia, A. K. Bacterial Biofilms and Their Implications in Pathogenesis and Food Safety. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2117-2143, 2021. DOI 10.3390/foods10092117. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/354454148_Bacterial_Biofilms_and_Their_Implications_in_Pathogenesis_and_Food_Safety. Acesso em: 6 abr. 2025.
- Banerjee, T. *et al.* Long-term outbreak of *Klebsiella pneumoniae* & third generation cephalosporin use in a neonatal intensive care unit in north India. **The Indian journal of medical research**, v. 144, n. 4, p. 622–629, 2016. DOI 10.4103/0971-5916.200900. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5345312/>. Acesso em: 3 jun. 2025.
- Beshiru, A.; Igbinosa, I. H.; Igbinosa, E. O. Biofilm formation and potential virulence factors of *Salmonella* strains isolated from ready-to-eat shrimps. **PLOS One**, v. 13, n. 9, 2018. DOI 10.1371/journal.pone.0204345. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204345>. Acesso em: 29 mar. 2025.
- Bridier, A. *et al.* Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. **Food Microbiology**, v. 45, p. 167-178, 2014. DOI 10.1016/j.fm.2014.04.015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25500382/>. Acesso em: 12 abr. 2025.

Carrascosa, C. *et al.* Microbial Biofilms in the Food Industry—A Comprehensive Review. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 4, 2021. DOI 10.3390/ijerph18042014. Disponível em:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7922197/>. Acesso em: 16 abr. 2025.

Costa, K. A. D. *et al.* FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM DIFERENTES SUPERFÍCIES DE INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, 2017. DOI 10.14295/2238-6416.v71i2.512. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/317394605_FORMACAO_DE_BIOFILMES_BACTERIANOS_EM_DIFERENTES_SUPERFICIES_DE_INDUSTRIAS_DE_ALIMENTOS. Acesso em: 16 abr. 2025.

Dawan, J.; Zhang, S.; Ahn, J. Recent Advances in Biofilm Control Technologies for the Food Industry. **Antibiotics**, v. 14, n. 3, 2025. DOI 10.3390/antibiotics14030254. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/389523366_Recent_Advances_in_Biofilm_Control_Technologies_for_the_Food_Industry. Acesso em: 18 maio 2025.

Elafify, M. *et al.* Biofilm formation in food industries: Challenges and control strategies for food safety. **Food Research International**, v. 190, 2024. DOI doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114650. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996924007208>. Acesso em: 5 abr. 2025.

Elahem, A. A. *et al.* Carbapenem Resistance in Gram-Negative Bacteria: A Hospital-Based Study in Egypt. **Medicina (Kaunas)**, v. 59, n. 2, 2023. DOI 10.3390/medicina59020285. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9961035/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Eltwisy, H. O. *et al.* Clinical Infections, Antibiotic Resistance, and Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, 2022. DOI 10.3390/microorganisms10061130. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9231169/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Ferreira, F. A. *et al.* Comparison of in vitro and in vivo systems to study ica-independent *Staphylococcus aureus* biofilms. **Journal of Microbiological Methods**, v. 88, n. 3, p.

393-398, 2012. DOI 10.1016/j.mimet.2012.01.007. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701212000085>. Acesso em: 21 fev. 2025.

FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS. Antimicrobial Resistance. **FAO/WHO**. Disponível em:
<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/thematic-areas/antimicrobial-resistance/en/>. Acesso em: 20 abr. 2025.

Flemming, H.; Wingender, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 623-633, 2010. DOI 10.1038/nrmicro2415. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/45440998_The_Biofilm_Matrix. Acesso em: 29 mar. 2025

Food and Drug Administration. Bad bug book: handbook of foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins. 2nd ed. Silver Spring: U.S. **Department of Health and Human Services**, 2012. Disponível em:
<https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/bad-bug-book-second-edition>. Acesso em: 19 abr. 2025.

Fostervold, A. *et al.* Risk of death in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections is associated with specific phylogenetic lineages. **Journal of Infection**, v. 88, n. 5, 2024. DOI 10.1016/j.jinf.2024.106155. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163445324000896>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Galié, S. *et al.* Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. **Frontiers in microbiology**, v. 9, n. 7, 2018. DOI 10.3389/fmicb.2018.00898. Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.00898/full>. Acesso em: 16 abr. 2025.

Günthard, H.; Pennekamp, A. Clinical significance of extraintestinal *Hafnia alvei* isolates from 61 patients and review of the literature. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 22, n. 6, p. 1040-5, 1996. DOI

10.1093/clinids/22.6.1040. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8783707/>. Acesso em: 3 jun. 2025.

Hall, C. w.; Mah, T. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 276–301, 24 set. 2017. DOI <https://doi.org/10.1093/femsre/fux010>. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/41/3/276/3089981?login=true>. Acesso em: 17 maio 2025.

Haney, E. F.; Trimble, M. J.; Hancock, R. E. W. Microtiter plate assays to assess antibiofilm activity against bacteria. **Nature Protocols**, v. 16, n. 5, p. 1-18, 2021. DOI 10.1038/s41596-021-00515-3. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/351159774_Microtiter_plate_assays_to_assess_antibiofilm_activity_against_bacteria. Acesso em: 21 fev. 2025.

Ioannou, P.; Vorria, A.; Samonis, G. Cellulosimicrobium Infections in Humans—A Narrative Review. **Antibiotics (Basel)**, v. 13, n. 6, 2024. DOI 10.3390/antibiotics13060562. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11201038/>. Acesso em: 2 jun. 2025.

Kaplan, J. B. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. **Journal of dental research**, v. 89, n. 3, p. 205–218, 2010. DOI 10.1177/0022034509359403. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/41413852_Biofilm_Dispersal_Mechanisms_Clinical_Implications_and_Potential_Therapeutic_Uses. Acesso em: 5 abr. 2025.

Karygianni, L. *et al.* Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 8, p. 668-681, 2020. DOI 10.1016/j.tim.2020.03.016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X20300871>. Acesso em: 29 mar. 2025.

Khatoon, Z. *et al.* Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, v. 4, n. 12, 2018. DOI . doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01067. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844018369019>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Kosako, Y. *et al.* Enterobacter kobei sp. nov., a new species of the family Enterobacteriaceae resembling Enterobacter cloacae. **Current Microbiology**, v. 33, p. 261-265, 1996. DOI 10.1007/s002849900110. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8824173/>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Kostyaney, T.; Can, F. The Global Crisis of Antimicrobial Resistance. *In*: Pulcini *et al.* **Antimicrobial Stewardship**. 1st ed. [S. I.]: Academic Press, 2017. p. 3-12.

Levitus, M.; Rewane, A.; Perera, T.B. Vancomycin-Resistant Enterococci. Florida, **StatPearls Publishing**, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Li, X. *et al.* Pseudomonas aeruginosa: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 2023. DOI 10.3389/fmicb.2022.1114199. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.1114199/full>. Acesso em: 6 abr. 2025.

Liu, X. *et al.* Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. **Molecules**, v. 28, n. 6, 2023. DOI 10.3390/molecules28062432. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10058477/>. Acesso em: 29 mar. 2025.

Lopes, L. *et al.* The influence of different culture media on Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, and Staphylococcus aureus biofilm formation. **Bioscience Journal**, v. 39, 2023. DOI 10.14393/BJ-v39n0a2023-68631. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/373306622_The_influence_of_different_culture_media_on_Pseudomonas_aeruginosa_Escherichia_coli_and_Staphylococcus_aureus_biofilm_formation. Acesso em: 8 abr. 2025.

Marouani-Gadri, N.; Augier, G.; Carpentier, B. Characterization of bacterial strains isolated from a beef-processing plant following cleaning and disinfection - Influence of isolated

strains on biofilm formation by Sakai and EDL 933 *E. coli* O157:H7. **International journal of food microbiology**, v. 133, n. 1-2, p. 62-67, 2009. DOI

10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.028. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/24431835_Characterization_of_bacterial_strains_isolated_from_a_beef-processing_plant_following_cleaning_and_disinfection_-_Influence_of_isolated_strains_on_biofilm_formation_by_Sakai_and_EDL_933_E_coli_O157H7. Acesso em: 6 abr. 2025.

Matle, I.; Mbatha, K. R.; Madoroba, E. A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 87, n. 1, 2020. DOI

10.4102/ojvr.v87i1.1869. Disponível em:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7565150/>. Acesso em: 8 abr. 2025.

Mazaheri, T. *et al.* *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Food Industry: Is the Current Hygiene Program Sufficient to Combat the Persistence of the Pathogen?. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 181-200, 2021. DOI 10.3390/microorganisms9010181. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/348615703_Listeria_monocytogenes_Biofilms_in_the_Food_Industry_Is_the_Current_Hygiene_Program_Sufficient_to_Combat_the_Persistence_of_the_Pathogen. Acesso em: 6 abr. 2025.

Melo, E. S. *et al.* Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **Pubvetpubvet**, v. 12, n. 10, 2018. DOI

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n10a191.1-9>. Disponível em:

<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1010>. Acesso em: 20 abr. 2025.

Menck-Costa, M. *et al.* Resistance and Virulence Surveillance in *Escherichia coli* Isolated from Commercial Meat Samples: A One Health Approach. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, 2023. DOI 10.3390/microorganisms11112712. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38004724/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Michaelis, C.; Grohmann, E. Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 328, 2023. DOI 10.3390/antibiotics12020328. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9952180/>. Acesso em: 17 maio 2025.

Muhammad, M. H. *et al.* Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020. DOI doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.00928/full>.

Acesso em: 3 abr. 2025.

Nazir, F. *et al.* Genetic Diversity and Functional Analysis of Sigma Factors in Enterobacter cloacae Complex Resourced From Various Niche. **Sage Journals**, v. 14, 2018. DOI 10.1177/1176934318754878. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1176934318754878>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Nnah, E. P. *et al.* Antibiotic-resistant Escherichia coli (E. coli) at one health interfaces in Africa: A scoping review. **Science of The Total Environment**, v. 958, 2025. DOI 10.1016/j.scitotenv.2024.177580. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969724077374>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Oliulla, H. *et al.* On-going issues regarding biofilm formation in meat and meat products: challenges and future perspectives. **Poultry Science**, v. 103, n. 12, 2024. DOI 10.1016/j.psj.2024.104373. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579124009519>. Acesso em: 7 abr. 2025.

Oliveira, M. M. M.; Brugnera, D. F.; Piccoli, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n. 3, p. 277-284, 2010. DOI 10.53393/rial.2010.v69.32626. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/375428236_Biofilmes_microbianos_na_industria_de_alimentos_uma_revisao. Acesso em: 28 mar. 2025.

OPAS. PANAFTOSA afirma que as doenças transmitidas por alimentos podem ser evitadas com ações preventivas ao longo do continuum da fazenda até a mesa. 2022. Disponível em <https://www.paho.org/pt/noticias/7-6-2022-panaftosa-alerta-que-doencas-transmitidas-por-alimentos-podem-ser-evitadas-com>. Acesso em: 20 abr. 2024.

Percival, S. L. *et al.* Introduction to Biofilms. **Biofilms and Veterinary Medicine**, p. 41-68, 2011. DOI 10.1007/978-3-642-21289-5_2. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/227033178_Introduction_to_Biofilms. Acesso em: 15 abr. 2025.

Pérez-Rodríguez, F. *et al.* Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 3, p. 131-144, 2008. DOI 10.1016/j.tifs.2007.08.003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422440700235X>. Acesso em: 4 abr. 2025.

Qin, S. *et al.* Pseudomonas aeruginosa: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. **Signal Transduction and Targeted Therapy volume**, n. 199, 2022. DOI <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-022-01056-1>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Rabin, N. *et al.* Biofilm Formation Mechanisms and Targets for Developing Antibiofilm Agents. **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 4 p. 493-512, 2015. DOI 10.4155/fmc.15.6. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/275046039_Biofilm_formation_mechanisms_and_targets_for_developing_antibiofilm_agents. Acesso em: 29 mar. 2025.

Ramos-Vivas, J. *et al.* The Molecular Weaponry Produced by the Bacterium *Hafnia alvei* in Foods. **Molecules**, v. 27, n. 17, 2022. DOI 10.3390/molecules27175585. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9457839/>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Reygaert, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018. DOI 10.3934/microbiol.2018.3.482. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6604941/>. Acesso em: 24 jun. 2025.

Rivas, F. G. *et al.* Biofilms in the Spotlight: Detection, Quantification, and Removal Methods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 5, 2018. DOI

10.1111/1541-4337.12378. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/326698740_Biofilms_in_the_Spotlight_Detection_Quantification_and_Removal_Methods. Acesso em: 16 abr. 2025.

Rodríguez, A.; Mclandsborough, L. A. Evaluation of the Transfer of *Listeria monocytogenes* from Stainless Steel and High-Density Polyethylene to Bologna and American Cheese.

Journal of Food Protection, v. 70, n. 3, p. 600-606, 2007. DOI

10.4315/0362-028X-70.3.600. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22060628?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=92f2677d59f902e7. Acesso em: 5 abr. 2025.

Rosa, R. L.; Molin, S.; Johansen, H. K. *Pseudomonas aeruginosa*: persistence beyond antibiotic resistance. **Trends in Microbiology**, 2025. DOI

<https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.05.004>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X25001519>. Acesso em: 2 jun. 2025.

Sadeghzadeh, R. *et al.* A Review of Challenges and Solutions of Biofilm Formation of *Escherichia coli*: Conventional and Novel Methods of Prevention and Control. **Food and Bioprocess Technology**, v. 17, n. 9, p. 1-36, 2024. DOI 10.1007/s11947-023-03288-7.

Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/377775547_A_Review_of_Challenges_and_Solutions_of_Biofilm_Formation_of_Escherichia_coli_Conventional_and_Novel_Methods_of_Prevention_and_Control. Acesso em: 4 jun. 2025.

Sadeghzadeh, R. *et al.* Novel strategies to control the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* in the food industry. **Future Foods**, v. 10, 2024. DOI

<https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100481>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666833524001850>. Acesso em: 3 abr. 2025.

Satpathy, S. *et al.* Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination.

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 7, p. 56-66, 2016. DOI

10.1016/j.bcab.2016.05.002. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818116300937?via%3Dihub>. Acesso em: 29 mar. 2025.

Sauer, K. *et al.* The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 10, p. 608-620, 21 jul. 2022. DOI doi:10.1038/s41579-022-00767-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35922483/>. Acesso em: 4 abr. 2025.

Scherrer, J. V; Marcon, L. N. Formação de biofilme e segurança dos alimentos em serviços de alimentação. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**, v. 7, n. 2, p. 91-99, 2016. DOI 10.3390/ijerph18042014. Disponível em: <https://www.rasbran.com.br/rasbran/article/view/102>. Acesso em: 21 abr. 2025.

Schultz, M. B.; Siravo, M. Enterobacter Infections. Florida, **StatPearls Publishing**, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Shahimi, N. H. *et al.* Draft Genome Sequence Data of Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae B36336, a Multidrug-Resistant Strain Isolated from a Human Bloodstream Infection. **Data in Brief**, 2025. DOI 10.1016/j.dib.2025.111744. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352340925004718>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Sharahi, J. Y. *et al.* Advanced strategies for combating bacterial biofilms. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 9, p. 14689-14708, 2019. DOI 10.1002/jcp.28225. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30693517/>. Acesso em: 12 abr. 2025.

Silva, D. A. L. *et al.* Biofilm growth by Listeria monocytogenes on stainless steel and expression of biofilm-related genes under stressing conditions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 119, 2021. DOI doi.org/10.1007/s11274-021-03092-5. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/350861799_Biofilm_Growth_By_Listeria_Monocytogenes_On_Stainless_Steel_and_Expression_of_Biofilm-Related_Genes_Under_Stressing_Conditions. Acesso em: 5 abr. 2025.

Simões, M.; Simões, L. C.; Vieira, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 4, p. 573-583, 2010. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.12.008>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643809003430?casa_token=qvLcm1tRaTgAAAAA:fwNmdOm-Ebh_pp9dhHyGhZqLlimWaHA7-CQ1_6h-EfKVM7iMUeYtry4oU_yNH81ToG6KQrcTazc. Acesso em: 18 maio 2025.

Siqueira, I. N. *et al.* Bactérias Formadoras de Biofilmes na Indústria de Laticínios: uma Breve Revisão. **Revista Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 4, 2021. DOI doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n4p491-500. Disponível em: <https://ensaioseciencia.pgsscogna.com.br/ensaioeciencia/article/view/8580>. Acesso em: 5 abr. 2025.

Sousa, A. T. H. I. *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. DOI [10.1590/1678-4162-10599](https://doi.org/10.1590/1678-4162-10599). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hHmhnyX5zNZhjJXRjk54Swb/#:~:text=Klebsiella%20pneumoniae%20%C3%A9%20um%20pat%C3%B3geno,amostras%20de%20animais%20s%C3%A3o%20escassos>. Acesso em: 5 jun. 2025.

Tewawong, N. *et al.* Mechanisms of fluoroquinolone resistance among *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in Thailand. **PLOS One**, v. 20, n. 5, 2025. DOI [10.1371/journal.pone.0325175](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0325175). Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0325175>. Acesso em: 4 jun. 2025.

Thi, M. T. T.; Wibowo, D.; Rehm, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 22, 2020. DOI [10.3390/ijms21228671](https://doi.org/10.3390/ijms21228671). Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/345989913_Pseudomonas_aeruginosa_Biofilms. Acesso em: 3 abr. 2025.

Torrenzan, R. Segurança. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2021. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/seguranca>. Acesso em: 18 abr. 2025.

Vásquez-Ponce , F.; Barbieri, E.; Lincopan, N. Multi-heavy metal tolerant and ESBL (CTX-M-15)-positive *Enterobacter kobei* ST87 from oysters, Brazil. **New microbes and new infections**, v. 64, 2025. DOI 10.1016/j.nmni.2025.101568. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11889579/?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 5 jun. 2025

Wang, F. *et al.* Antibiotic resistance in the soil ecosystem: A One Health perspective. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 20, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100230>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468584421000027>. Acesso em: 19 maio 2025.

Wang, R. Biofilms and Meat Safety: A Mini-Review. **International Association for Food Protection**, v. 82, n. 1, p. 120-127, 2019. DOI doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-311. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22097976>. Acesso em: 6 abr. 2025.

World Health Organization. Foodborne diseases: Global burden. **World Health Organization**, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/foodborne-diseases-global-burden>. Acesso em: 19 abr. 2025.

World Health Organization. Food safety. **World Health Organization**, 2024a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Acesso em: 19 abr. 2025.

World Health Organization. Antimicrobial Resistance. **World Health Organization**, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 19 abr. 2025.

World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. **World Health Organization**, 2016. Disponível em:

<https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>. Acesso em: 19 abr. 2025.

World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. **World Health Organization**, 2024b. Disponível em:

<https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 19 abr. 2025.

Yuan, L. *et al.* Mixed-species biofilms in the food industry: Current knowledge and novel control strategies. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 13, p. 2277-2293, 2019. DOI 10.1080/10408398.2019.1632790. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31257907/>. Acesso em: 12 abr. 2025.

Zhao, A.; Sun, J.; Liu, Y. Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, 2023. DOI

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2023.1137947/full>. Acesso em: 1 abr. 2025.

Zhen, X. *et al.* Clinical and Economic Impact of Third-Generation Cephalosporin-Resistant Infection or Colonization Caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: A

Multicenter Study in China. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 11, 2020. DOI 10.3390/ijerph17249285. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33322649/>. Acesso em: 4 jun. 2025.