

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DE PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS**



Débora Buzatto de Souza

**Identificação fenotípica e genotípica de
enterococos isolados de leites e
queijos de ovelhas para emprego futuro
como probióticos**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

Porto Alegre

2021

Débora Buzatto de Souza

Identificação fenotípica e genotípica de enterococos isolados de leites e queijos de ovelhas para emprego futuro como probióticos

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biociências da
Fundação Universidade Federal de Ciências
da Saúde de Porto Alegre como requisito
para a obtenção do grau de Mestre

Orientador(a): Profa. Dra. Ana Paula Frazzon
Coorientador: Prof. Dr. Jeverson Frazzon

Porto Alegre
2021

Catálogo na Publicação

Souza, Débora Buzatto de

Identificação fenotípica e genotípica de enterococos isolados de leites e queijos de ovelhas para emprego futuro como probióticos / Débora Buzatto de Souza. -- 2021.

40 p. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em BioCiências, 2021.

Orientador(a): Dra Ana Paula Frazzon ;
coorientador(a): Dr Jeverson Frazzon.

1. Enterococcus. 2. ovinos. 3. alimentos. 4. virulência. 5. resistência. I. Título.

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e laboratórios de microbiologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), sendo financiado pelos seguintes órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Ana Frazzon por ter me acolhido desde o dia em que a procurei, por ter me ensinado muito durante este tempo, por todo suporte e pela confiança no meu trabalho. Obrigada por ajudar no meu crescimento pessoal e profissional. Foste muito importante nesta jornada.

Ao pessoal do laboratório 222C do ICBS por todo auxílio. Em especial para a Rosana Huff que sempre esteve à disposição quando precisei, para a Tiela Trapp e Letícia Xavier que mesmo por mensagens me ajudaram muito, e para a Juliana Heck que desde o início me apoiou e foi minha parceira.

Agradeço as técnicas dos laboratórios de microbiologia da UFCSPA, especialmente a Rebeca Pereira por toda ajuda nesta reta final.

Aos meus amigos por terem entendido minhas ausências e terem me apoiado.

A minha amiga Izadora Vasconcellos que dividiu mais este momento acadêmico comigo.

Ao meu namorado por todo suporte e compreensão.

E aos meus pais, que nem palavras tenho para agradecer tudo que fazem por mim.

Obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 LEITE E QUEIJO DE OVELHA.....	13
1.2 MICROBIOTA DO LEITE E QUEIJO DE OVELHA.....	14
1.3 ENTEROCOCOS PRESENTES EM LEITES E QUEIJOS	15
1.4 ANTIMICROBIANOS EMPREGADOS NA PRODUÇÃO E NA CLÍNICA DE OVINOS	18
1.5 ENTEROCOCOS RESISTENTES AOS ANTIMICROBIANOS.....	19
1.5.1 Beta-lactâmicos (Ampicilina).....	19
1.5.2 Aminoglicosídeos (Gentamicina e Estreptomicina)	20
1.5.3 Glicopeptídeos (Vancomicina).....	21
1.5.4 Macrolídeos (Eritromicina).....	23
1.5.5 Tetraciclina	23
1.5.6 Rifampicina.....	24
1.5.7 Oxazolidinonas (Linezolida).....	25
1.5.8 Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina e Norfloxacino)	25
1.5.9 Nitrofuranos (Nitrofurantoina).....	25
1.5.10 Fenicol (Cloranfenicol).....	26
1.6 FATORES DE VIRULÊNCIA PRESENTES EM ENTEROCOCOS	26
2. OBJETIVOS	28
2.1 GERAL	28
2.2 ESPECÍFICOS	28
3. RESULTADOS.....	29
4. CONCLUSÕES	30
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

LISTA DE ABREVEATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

°C	Graus celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BAL	Bactéria ácido-lática
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
CAT	<i>Chloramphenicol Acetyltransferase</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
D-ala	D-alanina
D-lac	D-lactato
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPO	Denominação de Origem Protegida
D-ser	D-serina
dNTP	<i>Deoxynucleotide triphosphate</i>
g	Grama
GRAS	<i>Generally Regarded as safe</i>
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
I	Intermediária
IV	Quatro em romano
LPSN	<i>List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature</i>
MALDI-TOF	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption /Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry</i>
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
MSCRAMM	<i>Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules</i>
NaCl	Cloreto de Sódio
ng	Nanograma
OMS	Organização Mundial da Saúde
on	Oligonucleotídeos
pb	Pares de Base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
pH	Potencial Hidrogeniônico
PLP	Proteína de Ligação à Penicilina
R	Resistente
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
rRNA	<i>Ribosomal ribonucleic acid</i>
RS	Rio Grande do Sul
S	Sensível
SC	Santa Catarina
spp	Espécies
T	Tempo
tRNA	<i>Transfer Ribonucleic acid</i>
U	Unidade
UFC	Unidade Formadora de Colônia
v/v	volume/volume

LISTA DE ILUSTRAÇÕES:

Introdução

Figura 1. Resistência *vanA* a glicopeptídeos. **Pag. 22**

Figura 2. Estrutura do operon *vanB*. **Pag. 23**

RESUMO

Os enterococos são bactérias amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas também em alimentos. Nestes, seus metabólitos contribuem para o desenvolvimento de propriedades sensoriais. Além disso, a capacidade de algumas cepas em produzir peptídeos antimicrobianos (enterocinas) e compostos ácidos com atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas e deteriorantes de alimentos, são benéficos na indústria de alimentos. Entretanto, devido à sua capacidade de adquirir determinantes genéticos de virulência e resistência a antimicrobianos, aliado ao caráter oportunista de algumas espécies, esse gênero não possui o status de *Generally recognized as safe* (GRAS). A presença de enterococos resistentes a antimicrobianos e virulentos em diferentes tipos de alimentos tem sido amplamente estudada, entretanto em leites de ovelhas e queijos, são poucas as pesquisas realizadas. Tendo em vista o exposto, o objetivo do presente estudo foi identificar bactérias do gênero *Enterococcus* spp. em leites e queijos de ovelhas, obtidos da produção da região sul do Brasil, quanto à espécie, suscetibilidade a antimicrobianos e presença de genes de resistência e virulência, visando identificar possíveis cepas para estudos futuros de avaliação do potencial probiótico. Cento e cinquenta e seis enterococos foram isolados de amostras de leites e queijos colonial, tipo feta e tipo pecorino, identificados por MALDI-TOF, testados para suscetibilidade antimicrobiana e rastreados para genes de resistência e virulência. Os resultados do presente estudo demonstraram que *E. faecalis* foi a espécie mais frequente nas amostras de leites e queijos de ovelha. Porém, quando demonstrado por queijos, as amostras de queijo colonial apresentaram a maior diversidade de espécies (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* e *E. gallinarum*) quando comparadas aos demais tipos de queijos. Nos queijos tipo feta foram isoladas as espécies *E. durans* (65,52%) e *E. faecalis* (34,48%), enquanto no tipo pecorino, apenas *E. faecalis* (100%) foram encontrados. Todos os isolados foram sensíveis à ampicilina, linezolida e vancomicina. Alta porcentagem de isolados não suscetíveis a pelo menos um antimicrobiano foi demonstrada, sendo tetraciclina, eritromicina, nitrofurantoína, rifampicina e estreptomicina os antimicrobianos com maior ocorrência. Os *msrC* e *ermB* genes foram detectados em 28,81% e 11,11% dos isolados não susceptíveis a eritromicina, respectivamente. Além disso, os

genes *tetM* (98,04%) e *tetL* (54,90%) foram detectados nas cepas não suscetíveis à tetraciclina. Dezesseis isolados suscetíveis a todos os antibióticos avaliados foram testados quanto à presença dos genes de virulência *ace*, *agg*, *cylA* e *gelE*. Apenas 7 não apresentaram nenhum gene, sendo necessários estudos futuros para seu emprego como probiótico. Este trabalho demonstra a alta frequência (89,74%) de cepas de *Enterococcus* spp. resistentes e/ isolados de leites e queijos de ovelha, assim como a presença de possíveis cepas candidatas para estudos futuros para avaliação da sua capacidade probiótica.

Palavras-chaves: *Enterococcus*, ovinos, alimentos, virulência, resistência, probiótico

ABSTRACT

Enterococci are widely distributed in nature and in food. In these, their metabolites contribute to the development of sensory properties. In addition, the ability of some strains to produce antimicrobial peptides (enterokines) and acid compounds with antimicrobial activity against pathogenic and food spoilage bacteria are beneficial in the food industry. However, due to its ability to acquire genetic determinants of virulence and resistance to antimicrobials, plus the opportunistic character of some species, this genus does not have the status of Generally recognized as safe (GRAS). The presence of antimicrobial-resistant and virulent enterococci in different types of food has been widely studied, however, in sheep milk and cheese, little research has been done. Therefore, the aim of this study was to identify *Enterococcus* spp. in sheep milk and cheese, obtained from production in southern Brazil, regarding species, susceptibility to antimicrobials and presence of resistance and virulence genes, aiming to identify possible strains for future studies to evaluate the probiotic potential. One hundred and fifty-six enterococci were isolated from samples of milk and colonial, feta type and pecorino type cheeses, identified by MALDI-TOF, tested for antimicrobial susceptibility and screened for resistance and virulence genes. The results of the present study showed that *E. faecalis* was the most frequent species in sheep milk and cheese samples. However, when demonstrated by cheeses, colonial cheese samples showed the greatest diversity of species (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* and *E. gallinarum*) when compared to other types of cheese. In feta type cheeses, the species *E. durans* (65.52%) and *E. faecalis* (34.48%) were isolated, while in the pecorino type, only *E. faecalis* (100%) were found. All isolates were susceptible to ampicillin, linezolid and vancomycin. A high percentage of isolates not susceptible to at least one antimicrobial was demonstrated, with tetracycline, erythromycin, nitrofurantoin, rifampicin and streptomycin being the most frequent. The *msrC* and *ermB* genes were detected in 28.81% and 11.11% of the erythromycin not susceptible isolates, respectively. Furthermore, *tetM* (98.04%) and *tetL* (54.90%) genes were detected in tetracycline not susceptible strains. Sixteen isolates sensitive to all antibiotics evaluated were tested for the presence of virulence genes *ace*, *agg*, *cytA* and *gelE*. Only 7 did not have any gene, and further studies are

needed for its use as a probiotic. This work demonstrates the high frequency (89.74%) of *Enterococcus* spp. resistant strains isolated from sheep milk and cheese, as well as the presence of possible candidate strains for future studies to assess their probiotic capacity.

Keywords: *Enterococcus*, sheep, food, virulence, resistance.

1. INTRODUÇÃO

1.1 LEITE E QUEIJO DE OVELHA

O leite é um alimento considerado altamente nutritivo pela sua composição rica em carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (Mohapatra *et al.*, 2019). O leite e seus derivados são comuns em muitas dietas, podendo ser consumidos diariamente. (SBAN, 2015). O leite pode ser obtido de várias espécies de animais, como vacas (*Bos taurus*), ovelhas (*Ovis aries*), cabras (*Caprinae*), éguas (*Equus ferus caballus*), mula (*Equus africanus asinus*), camela (*Camelus*), búfala (*Bubalus sp*), rena (*Rangifer tarandus*) e a alce (*Alces alces*).

A produção mundial de leite (81% de leite de vaca, 15% de leite de búfala e um total de 4% para leite de cabra, ovelha e de camela juntos) em 2020, foi estimada em 532,3 milhões de toneladas, um aumento de 1,5% frente a 2019 (524,3 milhões de toneladas) e 6,7% acima do observado em 2016 (498,6 milhões de toneladas). No Brasil, a exemplo dos principais países produtores de leite, o crescimento da produção foi contínua, e comparando 2020 com 2016, a alta acumulada foi de 9,8%, variando de 22,7 milhões de toneladas para 24,95 milhões de toneladas (USDA, 2020).

A produção mundial de leite de ovelha foi estimada em cerca de 10 milhões de toneladas (FAO, 2013). Os maiores produtores de leite de ovelha são a China, Turquia e Grécia e a África (Embrapa, 2020). Os produtos lácteos derivados do leite de ovelha são encontrados com frequência nos mercados de países como China, Síria, Irã, Turquia e Argélia (FAO, 2015). No Brasil, a produção de leite de ovelha e seus produtos estão concentrados nas regiões sul e sudeste do país. Atualmente, a fabricação de derivados de leite de ovelha em escala industrial ocorre na região oeste catarinense, nas regiões da serra e metropolitana do Rio Grande do Sul, no centro sul do Rio de Janeiro e no sul de Minas Gerais (Zucatti *et al.*, 2015).

A produção de leite ovino é uma alternativa sustentável, que pode melhorar a qualidade de vida dos pequenos e médios produtores rurais, uma vez que possui baixo investimento inicial e é de fácil adoção pela mão de obra familiar (Suárez e Busetti, 2006). Mais concentrado que o leite de vaca e cabra, com teores mais elevados de cálcio, proteínas, lipídeos, minerais e vitaminas, gordura, cinzas e densidade, o leite de ovelha é indicado para a fabricação de queijos com aromas

e sabores especiais, de alto valor comercial, podendo aumentar o retorno financeiro para o ovinocultor (Park *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2007).

Outra característica observada no leite de ovelha são suas partículas de gordura de tamanho pequeno, que facilitam sua digestão e colaboram com seu aroma e sabor suave e textura cremosa. Possui tempo de coagulação menor em comparação com leites de vacas e é bastante utilizado na produção de queijos e iogurtes, resultando em produtos ricos em cálcio e proteínas (Jandal, 1996; Ribeiro *et al.*, 2007; Balthazar *et al.*, 2017).

Dentre os derivados do leite de ovelha, se destacam os queijos. Em alguns lugares do mundo os queijos possuem com denominação de origem protegida (DOP), como na Itália, por exemplo, onde é produzido o queijo pecorino sardo, um queijo semi-cozido, com maturação de dois meses ou mais (Madrau *et al.*, 2006). Ele pode ser produzido a partir de leite cru de ovelha, sem adição de cultura *starter*, ou com leite termizado, sendo necessária a adição de *starters* (Mannu e Paba, 2002). Outro queijo com DOP é o queijo feta, de origem grega, que possui textura macia e sabor salgado (Hamdy *et al.*, 2020). Pode ser produzido inteiramente com leite de ovelha ou com uma mistura de até 30% de leite de cabra, podendo estes serem crus ou pasteurizados, neste, sendo feito o uso de culturas comerciais de ácido láctico (Katsouri *et al.*, 2020). No sul do Brasil se produzem queijos denominados coloniais. São considerados uma herança cultural dos imigrantes que chegaram na região sul do país (Daltoé *et al.*, 2017). Possuem tempo de maturação curto, média umidade, massa semi mole e é um produto semi-gordo (Bordini *et al.*, 2020). Estes podem ser feitos a partir de leite cru ou pasteurizado, que necessita de culturas *starters* para compensar a diminuição da microbiota autóctone do leite (Carvalho *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2019).

1.2 MICROBIOTA DO LEITE E QUEIJO DE OVELHA

Os leites podem apresentar em sua composição uma grande diversidade de micro-organismos. A origem desses micro-organismos pode ser endógena ou exógena. Chama-se de endógena, os originados de uma contaminação direta, por transferência do sangue ou por infecções do úbere, enquanto que a origem exógena, é resultado do ambiente, fezes, manipulação, processamento ou

armazenamento inadequado (Verraes *et al.*, 2015; Brom *et al.*, 2020). Vale ressaltar que essa diversidade é influenciada por fatores como raça, idade, sistema de criação e alimentação do animal, estação, temperatura e doenças do úbere, fatores que dificultam seu conhecimento (Scintu *et al.*, 2007; Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008; Balthazar *et al.*, 2017).

Leites e queijos de ovelha apresentam diversidade de micro-organismos em sua composição. A microbiota do leite de ovelha tem sido investigada e os táxons comuns entre as amostras são: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, entre outros (Quigley *et al.*, 2013; Esteban-Blanco *et al.*, 2019; Oikonomou *et al.*, 2020). Recentemente, foi avaliada a microbiota de leite e queijo de ovelha produzidos no sul do Brasil e *Phyllobacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Pseudomonas* spp., *Bifidobacterium* sp. e *Propionibacterium* spp. estão entre os táxons mais comuns nos leites. Já nos queijos de ovelha, os gêneros mais encontrados foram *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. mostrando diminuição da microbiota em comparação com leites crus, uma vez que as amostras estudadas eram provenientes de queijos produzidos a partir de leites pasteurizados e adicionados de culturas *starters* utilizadas na preparação dos queijos (Endres *et al.*, 2021).

A diversidade da microbiota do leite cru contribui com as características sensoriais dos queijos, as quais estão em menor quantidade em produtos feitos com leite pasteurizado (Scintu *et al.*, 2007). Neste, bactérias podem ser adicionadas durante a produção deste alimento, na forma de culturas *starters*, compostas por bactérias ácido-láticas (BAL), conhecidas pela sua capacidade de acidificação do meio, proteólise, lipólise e produção de compostos, características que ajudam no desenvolvimento das propriedades organolépticas dos produtos (Hatti-Kaul *et al.*, 2018). Estas bactérias também são capazes de inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos e deteriorantes de alimentos (Wu *et al.*, 2017).

1.3 ENTEROCOCOS PRESENTES EM LEITES E QUEIJOS

Os *Enterococcus* spp. formam um gênero de bactérias anaeróbias facultativas, Gram-positivas, arrançadas em pares de cocos, podendo ser

encontrados em diversos ambientes, como água, solo, alimentos, pele, trato urinário e intestino de humanos e outros animais de sangue quente saudáveis (Lebreton *et al.*, 2014). Possuem crescimento excelente entre as temperaturas de 35° e 37°C, mas conseguem se desenvolver de 10 a 45°C, além de sobreviver por 30 minutos em 60°C, e de crescerem em 6,5% de NaCl, pH de 9.6 e hidrolisar esculina na presença de 40% de sais biliares (Facklam *et al.*, 2002; García-Solache *et al.*, 2019).

O gênero *Enterococcus* pertence à família Enterococcaceae e inclui 59 espécies, sendo as espécies *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* as mais encontradas no trato gastrointestinal humano e de animais, além de serem encontradas em casos de infecções (Lebreton *et al.*, 2014; LPSN). *Enterococcus durans*, *E. hirae* e *E. gallinarum* também podem ser encontrados, mas de forma menos comum (Dangere, 2002; Antonello, 2010; Kenzaka *et al.*, 2013; Brayer *et al.*, 2019; Pinkes *et al.*, 2019; Bilek *et al.*, 2020).

Estas bactérias fazem parte das chamadas BAL, devido sua atividade proteolítica e lipolítica, contribuindo para o amadurecimento de produtos fermentados (Bhardwaj *et al.*, 2008). Sua capacidade de tolerar altas concentrações de sal e ácidos faz com que estejam presentes no amadurecimento de alimentos como o queijo (Saidi *et al.*, 2020). Ademais, fazem a metabolização de citrato, utilizado para a obtenção de diacetil, acetaldeído, acetoína, 2-3 butanodiol e dióxido de carbono, que contribuem com o desenvolvimento das características organolépticas dos alimentos (Giraffa, 2003; D'Angelo *et al.*, 2019). Por conta disto, os enterococos podem ser utilizados como cultura *starter* ajudando no desenvolvimento sensorial de queijos, sejam esses derivados de leite cru ou pasteurizado.

Entretanto, sua característica ubíqua causa debate sobre seu aparecimento em alimentos, pois nem sempre sua origem é conhecida, podendo esta estar associada com sistema de abastecimento de água, equipamentos e condições insalubres e anti-higiênicas de produção e manuseio, além da associação com contaminação fecal (Giraffa, 2003; Braiek *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2020).

Além disso, esse gênero também é conhecido por causar infecções em humanos e por possuir um perfil de multirresistência a antibióticos de uso clínico humano e

capacidade de adquirir e expressar novos fatores determinantes de resistência (Higuita *et al.*, 2014; Fiore *et al.*, 2019; García-Solache *et al.*, 2019).

De acordo com Fernandes *et al.*, (2015) há presença de *Enterococcus* sp. em leites crus (predominância de *E. faecalis*) e pasteurizados, porém, no último em menor número. Neste mesmo trabalho, *E. faecalis* e *E. faecium* foram observados na ricota e no seu ambiente de processamento (Fernandes *et al.*, 2015). Fracalanza *et al.*, (2007) também descreveram a presença deste gênero em leites pasteurizados, sendo, em ordem decrescente, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* e *E. faecium* as espécies encontradas (Fracalanza *et al.*, 2007). Diferentes espécies de enterococos têm sido isoladas de queijos, sendo *E. faecium* e *E. faecalis* as espécies de maior ocorrência na microbiota natural de vários tipos de queijos. *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* e *E. hirae* foram encontrados em queijos Serpa produzidos com leite cru de ovelha e sem adição de *starter* (Gonçalves, 2018). *Enterococcus durans*, *E. faecium* e *E. casseliflavus* foram isolados de queijos Pecorino Abruzzese (Serio, 2007). Este gênero também já foi isolado de Žinčica, um subproduto formado a partir do aquecimento, agitação, coagulação e resfriamento do soro do leite de ovelha, que ocorre durante a produção de queijo (Lauková, 2019). Neste subproduto foram isolados *E. faecalis* e *E. faecium*, que demonstraram em sua maior parte susceptibilidade aos antimicrobianos testados e ausência de genes de virulência (Lauková, 2019). Em amostras de leite cru de búfalas no Sul do Brasil, Prichula *et al.* (2013), identificaram *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* e *Enterococcus* sp. com reduzido perfil de resistência a antimicrobianos.

Enterococcus sp. também têm utilização como probiótico para humanos, que se dá pela sua capacidade de auxiliar no tratamento e/ou prevenção de doenças intestinais em humanos (Hanchi *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2019). Este gênero não possui o status de geralmente reconhecido como seguro (*Generally Recognized as Safe* – GRAS), porém algumas cepas já são usadas como suplementos em probióticos, como *E. faecium* M74, *E. faecium* SF-78 e *E. faecalis*, que pode ser encontrado na preparação Symbioflor (Symbiopharm, Herborn, Alemanha) (Hanchi *et al.*, 2018). Entretanto, estas cepas não fazem parte dos constituintes autorizados para uso em suplementos alimentares pela ANVISA (ANVISA, 2021).

Probiótico é um micro-organismo que, quando administrado em quantidades

adequadas, conferem benefício à saúde do indivíduo (ANVISA, 2018). Para um micro-organismo ser considerado adequado para o uso como probiótico, ele deve ter capacidade de adesão às células hospedeiras, conseguir diminuir micro-organismos patogênicos com a produção de compostos, ser seguro, não ser carcinogênico e conseguir persistir ou multiplicar no trato gastrointestinal (Foulquie-Moreno *et al.*, 2006; Vandenplas *et al.*, 2015). Em animais, o uso de probióticos vem sendo estudado como promotores de crescimento, pela sua capacidade de ajudar na digestão dos alimentos, tornando os nutrientes disponíveis para um crescimento mais rápido (Alagawana *et al.*, 2018). Seu uso é uma alternativa ao uso de antibióticos para este fim, já que esses vêm causando aumento no número de bactérias resistentes encontradas (Angelakis *et al.*, 2017).

Para que bactérias sejam utilizadas como probióticos, é necessário que sejam feitos estudos comprovando sua segurança, a ausência e ocorrência de eventos adversos, de resistência a antimicrobianos, de fatores de virulência, de produção de substâncias ou metabólitos que representem risco à saúde humana, e deve apresentar susceptibilidade a, pelo menos, dois antibióticos (ANVISA, 2018). As espécies *Enterococcus durans*, *E. faecium* e *E. casseliflavus* foram anteriormente isolados de leite de ovelha da raça Lacaune e avaliados quanto ao seu potencial probiótico, que mostrou resistência a suco gástrico, sais biliares, além de apresentarem antagonismo contra *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, bactérias patogênicas (Acurcio *et al.*, 2014).

1.4 ANTIMICROBIANOS EMPREGADOS NA PRODUÇÃO E NA CLÍNICA DE OVINOS

Os antimicrobianos são medicamentos utilizados no tratamento de infecções, tanto em humanos quanto em animais. Nos animais, também podem ser utilizados como profiláticos, terapêutico ou como promotores de crescimento (Lukášová *et al.*, 2003; Garrido *et al.*, 2014). Porém, o uso exacerbado de antimicrobianos pode selecionar bactérias resistentes da microbiota dos animais, gerando risco de saúde única (*One health*), tanto para as pessoas que manipulam esses animais, como produtos de origem animal consumido pela população (Lukášová *et al.*, 2003).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde uma forma de prevenir a

transmissão de bactérias resistentes a antimicrobianos de animais produtores de alimentos para humanos é prevenir o surgimento e a disseminação (WHO, 2017). Desta forma, a OMS orienta que seja otimizada a utilização de antimicrobianos para humanos e animais, para que o surgimento e a disseminação sejam desacelerados, preservando sua eficácia.

Nas últimas décadas, houve um aumento muito significativo na produção animal. O aumento na pressão para produção resultou em maior uso de antibióticos para manter melhorias do desempenho e saúde do rebanho. Nos sistemas de produção agropecuária, os antimicrobianos são empregados com três diferentes propósitos: a) tratamento de infecções bacterianas específicas, b) prevenção de infecções bacterianas, e c) aditivo alimentar, como promotor de crescimento (Andreotti e Nicodemo, 2004).

Os antimicrobianos mais empregados na antibioticoterapia oral em ovinos e outros ruminantes são: sulfonamidas (sulfaguanidina, ftalilsulfatiazol, ftalilsulfacetamida, succinilsulfatiazol, salicilazosulfapiridina, nitrosulfadiazol), antibióticos ionóforos (monensina sódica e lasalocida sódica), quinolonas (ácido nalidíxico, flumequina e o ácido oxolínico, fluorquinolonas), cloranfenicol, tetraciclina e cefalosporina (Santos *et al.*, 2008).

1.5 ENTEROCOCOS RESISTENTES AOS ANTIMICROBIANOS

Os enterococos possuem facilidade em portar e adquirir fatores determinantes de virulência e de resistência, colaborando com sua disseminação. Sendo assim, quando uma amostra apresenta cepas resistentes pode ser um problema sua presença nos alimentos embora sejam poucas as evidências de ligação entre bactérias resistentes na cadeia alimentar e em humanos (Garrido *et al.*, 2014; Torres *et al.*, 2018; Bennani *et al.*, 2020).

Os enterococos possuem mecanismos já conhecidos sobre a resistência que apresenta sobre cada classe de antibióticos. Abaixo estão descritos os mecanismos para cada antimicrobiano.

1.5.1 Beta-lactâmicos (Ampicilina)

Os beta-lactâmicos são antimicrobianos bactericidas, ou seja, têm a

capacidade de matar a célula bacteriana. Eles têm como alvo molecular a proteína de ligação à penicilina (PLP), responsável pela parte final da montagem da parede celular bacteriana e modelação da mesma. Eles atuam impedindo a síntese da parede celular, por interferirem na ligação entre peptidoglicanos, pela não conclusão da transpeptidação. (Donowitz *et al.*, 1988; Tooke *et al.*, 2019). A resistência a essa classe de antibióticos nos enterococos pode ocorrer de forma intrínseca ou adquirida, e os mecanismos descritos são a superexpressão das PLP ou do gene codificante *pbp5*, e pela modificação em 21 posições da PLP, por aquisição sequencial de mutações (Garrido *et al.*, 2014; Gagetti *et al.*, 2019). Também pode apresentar resistência por meio da produção de beta- lactamases, que são enzimas capazes de hidrolisar os beta-lactâmicos, inativando a enzima. O gene codificante de enzimas podem estar presentes no cromossomo ou em plasmídeos ou transposons (Donowitz *et al.*, 1988; Murray, 2000; Gagetti *et al.*, 2019, Tooke *et al.*, 2019).

1.5.2 Aminoglicosídeos (Gentamicina e Estreptomicina)

Aminoglicosídeos são antibióticos com atividade bactericida, que matam a célula bacteriana ao se ligarem à subunidade 30S dos ribossomos, prejudicando a síntese de proteínas bacterianas (Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999; Becker e Cooper, 2013). Os enterococos possuem resistência intrínseca a baixo nível de aminoglicosídeos, por possuírem baixa permeabilidade celular (Garrido *et al.*, 2014). Entretanto, isso pode ser solucionado associando ao aminoglicosídeo um antibiótico que interfira na parede celular bacteriana, como a penicilina, o qual irá aumentar a capacidade bactericida (Rubinstein *et al.*, 2013). Porém, podem apresentar alta resistência ao adquirirem genes codificadores de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, que eliminam o efeito sinérgico entre o aminoglicosídeo e o antimicrobiano que atua na parede celular (Chow *et al.*, 2000; Garrido *et al.*, 2014). A resistência a aminoglicosídeos também pode ocorrer por ação de enzimas como acetiltransferases, fosfotransferases e nucleotidil transferases, que alteram os aminoglicosídeo, diminuindo sua afinidade de ligação com seu alvo (Krause *et al.*, 2016).

Alta resistência a estreptomicina já foi encontrada em *Enterococcus* spp. isolados de amostras fecais de alunos iranianos saudáveis, mas baixa resistência

a gentamicina e ampicilina (Jannati *et al.*, 2019).

1.5.3 Glicopeptídeos (Vancomicina)

A sensibilidade aos glicopeptídeos, ocorre quando o antibiótico se liga ao terminal D-Ala-D-Ala dos precursores da parede celular, que após translocação, resulta em alta afinidade pela vancomicina, impedindo a síntese da parede célula bacteriana, pelo comprometimento das reações enzimáticas (Rubinstein *et al.*, 2013; Marschall *et al.*, 2019). A resistência se dá pela presença de enzimas que modificam a terminação dos precursores por D-Ala-D-Lac ou D-Ala-D-Ser, resultando em uma diminuição de afinidade de 1000 e 6 vezes, respectivamente (Murray, 2000; Rubinstein *et al.*, 2013; Zeng *et al.*, 2016). Existem nove tipos de genes de resistência, sendo *vanA* e *vanB* os mais frequentes, e, por isso, aqui discutidos.

Resistência a vancomicina já foi observada em 100% de amostras fecais coletadas de gados leiteiros de comunidades rurais da África do Sul (Iweriebor *et al.*, 2016).

Gene *vanA*

O fenótipo VanA é a forma mais frequente de resistência a glicopeptídeos e está relacionada a resistência a elevadas concentrações de vancomicina e teicoplanina (Ahmed *et al.*, 2018). Seu fenótipo de resistência é codificado pelo transposon Tn1546 (Ahmed *et al.*, 2018). Porém, a resistência não é dada apenas por este gene, mas sim por um conjunto de genes (*operon*) representados pelos genes: *vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanX*, *vanY* e *vanZ*, que expressam de forma anormal o precursor do peptidoglicano, o qual a vancomicina se liga com baixa afinidade (Figura 1) (Raza *et al.*, 2018).

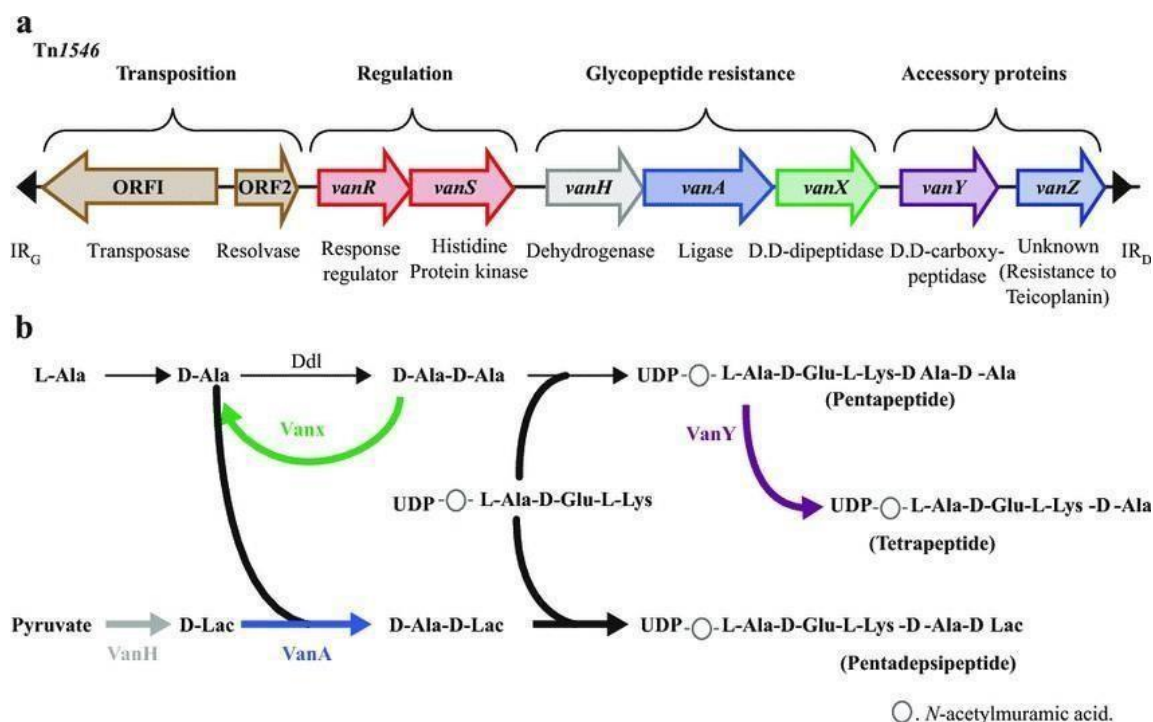


Figura 1. Resistência *vanA* a glicopeptídeos: a. Organização do *operon vanA* em *Tn1546*. Setas abertas representam sequências de codificação e indicam a direção da transcrição. b. Síntese de precursores de peptideoglicano em uma cepa *VanA* resistente após indução com glicopeptídeo (Fonte: Jacoby, 2018).

Gene *vanB*

O fenótipo *VanB* apresenta grau variável de resistência à vancomicina, mas a maioria permanece sensível a teicoplanina *in vitro*. O gene *vanB* está localizado entre os genes reguladores e o *cluster vanHBBXB* (Garrido, 2014). A aquisição da resistência ocorre pela aquisição ou transferência de transposons do tipo *Tn5382*, *Tn1549* e *Tn1547* (Ahmed et al., 2018).

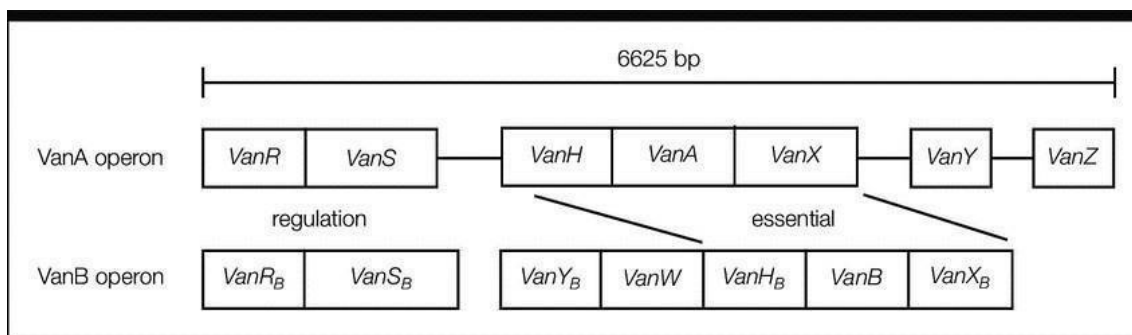


Figura 2. Estrutura do operon *vanB* (Fonte: Rice, 2001).

1.5.4 Macrolídeos (Eritromicina)

Os macrolídeos inibem a síntese de proteínas por meio da ligação ao 23S rRNA da subunidade 50S do ribossomo (Jednacak *et al.*, 2020). A resistência dos enterococos a este antibiótico se dá pela presença do gene *ermB*, o qual codifica uma enzima que metila uma adenina específica no 23S rRNA da subunidade 50S, que resultará na redução da afinidade da ligação do macrolídeo ao ribossomo (Garrido *et al.*, 2014; Kristith *et al.*, 2014). Os macrolídeos também podem se tornar ineficazes no controle de enterococos, quando estes codificam cromossomicamente proteínas de membranas conhecidas como bomba de efluxo, este mecanismo é codificado pelo gene *mrsC* (Munita *et al.*, 2001).

Resistência à eritromicina já foi observada em amostras de suínos, onde os isolados apresentaram maioria do gene *ermB* (Zou, 2010). Também foi encontrada resistência em *E. faecalis* isolados de carnes de frango, com alta prevalência do gene *ermB* (Kim *et al.*, 2019).

É proibido em todo o território nacional a importação, fabricação e o uso da substância antimicrobiana eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal (IN nº 14, 17/05/2012).

1.5.5 Tetraciclina

A tetraciclina possui mecanismo de ação de inibição da síntese proteica de

bactérias, podendo estas ser Gram-positivas ou negativas (Grossman *et al.*, 2016). Esse antibiótico se liga aos ribossomos bacterianos, interagindo com o 16S rRNA na subunidade 30S, interrompendo a tradução pois interfere com a ancoragem do tRNA durante o alongamento (Grossman *et al.*, 2016). A resistência a esse antibiótico por enterococos é associada a presença de genes que conferem proteção ribossomal, *tetM*, *tetO* e *tetS*, ou genes codificadores de bombas de exportação de tetraciclina, *tetK* e *tetL* (Garrido *et al.*, 2014; Torres *et al.*, 2018). O gene *tetM* é o mais frequente e está relacionado ao transposon *Tn916* (García-Solache *et al.*, 2019).

Enterococcus sp. resistentes a este antimicrobiano já foram encontrados em amostras fecais de bovinos e suínos saudáveis, devido ao grande uso como tratamento (Aasmae, 2019). *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* foram isolados de amostras de leites de vacas com suspeita de mastite, e apresentaram grande porcentagem de resistência a tetraciclina e eritromicina (Róžańska, 2019). Também foi encontrada resistência em *E. faecalis* isolados de carnes de frango, com alta prevalência dos genes *tetM* e *tetL* (Kim *et al.*, 2019).

O uso do princípio ativo nitrofuranos e produtos que contenham este princípio ativo têm o uso proibido como aditivo na alimentação animal (IN nº09, 27/06/2003). As tetraciclinas são de uso exclusivo em produtos antimicrobianos de uso veterinário, sendo vedada a sua utilização como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho ou como conservantes de alimentos para animais (IN, nº26, 09/07/2009).

1.5.6 Rifampicina

A rifampicina é um antibiótico com efeito bactericida, que atua bloqueando a transcrição, ao se ligarem a aminoácidos localizados no centro da RNA polimerase, inibindo a síntese de RNA bacteriano (Campbell *et al.*, 2001). Resistência a este antibiótico pode se dar por modificação do alvo, codificado pelo gene *rpo*, duplicação do alvo, ação de proteínas de ligação a RNA polimerase, modificação da rifampicina e modificação da permeabilidade celular (Tupin *et al.*, 2010). Embora não seja comumente utilizado no tratamento de doenças enterocócicas, os enterococos são frequentemente resistentes a rifampicina (Garrido *et al.*, 2014; Sanlibaba *et al.*, 2018).

Já foram encontrados *Enterococcus* spp. resistentes a este antimicrobiano em amostras de swabs retais e amostras fecais de macacos-prego pretos (Grassotti *et al.*, 2018). Também foram encontrados *E. faecalis* e *E. faecium* resistentes a rifampicina em amostras de alimentos fermentados (Valenzuela *et al.*, 2013).

1.5.7 Oxazolidinonas (Linezolida)

Aqui representadas pela linezolida, esses antibióticos inibem a síntese de proteínas bacterianas, ao se ligarem em locais do seu ribossomo, inibindo a formação do complexo de iniciação 70S (Diekema *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2016). A resistência pode ocorrer pela mutação de genes no 23S *rRNA* ou pela aquisição do gene *cfr* ou *cfrB*, que é codificado por um plasmídeo (Diekema *et al.*, 2001; Hollenbeck *et al.*, 2012; García-Solache *et al.*, 2019).

1.5.8 Fluoroquinolonas (Ciprofloxacina e Norfloxacino)

As fluoroquinolonas são fármacos bactericidas, que causam a morte da célula bacteriana ao inibirem a replicação e transcrição de DNA bacteriano (Ezelarab *et al.*, 2018). Cepas enterocócicas com alto grau de resistência possuem mutações nos genes *gyrA* e *parC* (García-Solache *et al.*, 2019). A resistência a essa classe de antibióticos também pode ser associada a bombas de efluxo, como *emeA* (Garrido *et al.*, 2014; Torres *et al.*, 2018).

Já foi observada alta resistência a ciprofloxacino em amostras de swabs cloacais de galinhas poedeiras saudáveis no centro da Itália e em amostras de fazendas da Tunísia, 70,4% e 60%, respectivamente (Ben Said *et al.*, 2015; Bertelloni *et al.*, 2015).

1.5.9 Nitrofuranos (Nitrofurantóina)

Aqui representados pela nitrofurantóina, este antibiótico possui efeito bacteriostático, podendo, também, ter um efeito bactericida quando administrado em maiores concentrações (Wijma *et al.*, 2018). Seu modo de ação é incerto, mas sabe-se que enzimas nitroredutases produzem metabólitos, que se ligam aos ribossomos bacterianos inibindo várias enzimas envolvidas na síntese de DNA, RNA e outras enzimas metabólicas (Huttner *et al.*, 2015; Wijma *et al.*, 2018).

Resistência a este antibiótico não é frequente, por conta do seu mecanismo de ação complexo (Meena *et al.*, 2017).

O uso do princípio ativo nitrofuranos e produtos que contenham este princípio ativo têm o uso proibido como aditivo na alimentação animal (IN nº09, 27/06/2003). Foi observado por Abriouel (2008) diferença entre a incidência de isolados resistentes a nitrofurantoína em amostras de não clínicas e clínicas, onde a primeira apresentou 4,54% de frequência e a segunda 33,33% (Abriouel *et al.*, 2008).

1.5.10 Fenicol (Cloranfenicol)

Aqui representado pelo cloranfenicol, possui atividade bacteriostática, por impedir a biossíntese de proteínas bacterianas, ao ligar-se ao centro de peptidil transferase na subunidade ribossomal 50S dos ribossomos 70S, impedindo o alongamento da cadeia peptídica (Schwarz *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2016). A resistência pode ocorrer devido a produção de enzimas cloranfenicol acetiltransferases (Chloramphenicol acetyltransferase - CAT), codificada pelo gene *cat*, sistema de efluxo, inativação por fosfotransferases, mutações do local alvo e barreiras de permeabilidade (Schwarz *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2018).

O uso do princípio ativo cloranfenicos e produtos que contenham este princípio ativo têm o uso proibido como aditivo na alimentação animal (IN nº09, 27/06/2003).

1.6 FATORES DE VIRULÊNCIA PRESENTES EM ENTEROCOCOS

Os enterococos possuem proteínas que evidenciam sua patogenicidade, chamadas de fatores de virulência. Um desses fatores são as adesinas de colágeno, responsáveis por permitir a adesão de *E. faecalis* com matrizes proteicas do hospedeiro (colágeno IV) (Singh *et al.*, 2010). Codificadas pelo gene *ace*, pertencente à família de componentes da superfície microbiana que reconhece moléculas de matriz adesiva (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules - MSCRAMM) (Fisher *et al.*, 2009). Sem esses meios de fixação, eles provavelmente seriam eliminados pela motilidade intestinal normal (Kayser, 2003). Este gene já foi encontrado em 96,3% e 27,8% de *E. faecalis* e *E. faecium* isolados de swabs cloacais de pássaros selvagens, respectivamente (Stępień-Pyśniak *et al.*, 2019). Alta frequência desse gene também já foi encontrada em *E. faecalis* e *E. faecium* isolados da linha de processamento de ricotta de uma fábrica

(Fernandes *et al.*, 2015).

O gene *agg*, presente em *E. faecalis*, codifica uma glicoproteína de superfície, induzida por ferormônio, que ajuda na agregação bacteriana durante a conjugação, facilitando a transferência de plasmídeos e facilita, também a adesão entre a célula bacteriana e células eucarióticas (Upadhyaya *et al.*, 2009). Este gene já foi encontrado em 68,4% de *Enterococcus* isolados de feridas infectadas de pacientes hospitalizados na Polônia (Dworniczek *et al.*, 2012). Os genes *agg* e *ace* são genes importantes para a adesão da bactéria no tecido hospedeiro, etapa importante para a indução de infecção (Stępień-Pyśniak *et al.*, 2019).

Algumas linhagens de enterococos conseguem secretar citolisina, codificada por um *operon*, uma toxina com capacidade hemolítica contra células eucariotas, também possuindo propriedades bactericidas contra outras bactérias Gram-positivas (Haas *et al.*, 2002; Fisher *et al.*, 2009). Este gene já foi encontrado com predominância em *E. faecalis*, 59,55%) de isolados clínicos da Índia (Kiruthiga *et al.*, 2020).

Podem possuir uma protease, chamada gelatinase, que a protege contra a imunidade humoral do hospedeiro, causando danos a hemoglobina, fibrinogênio, fibrinas e colágeno (Pillay *et al.*, 2018). Codificada pelo gene *gelE*, já foi encontrado em 43,5% *Enterococcus* spp. isolados de swabs cloacais de pombos correios da Polônia (Dolka *et al.*, 2020).

A combinação entre a capacidade de adquirir resistência antimicrobiana e os fatores de virulência é o motivo do gênero *Enterococcus* não ser GRAS (Cariolato *et al.*, 2008).

Estudos que avaliam resistência a antibióticos, virulência e padrões benéficos de cepas enterocócicas foram amplamente avaliados nos mais diversos tipos de alimentos nos últimos anos (Martin *et al.*, 2009; Frazzon *et al.*, 2010; Dowdell *et al.*, 2019; Golob *et al.*, 2019). No entanto, poucos estudos foram realizados em amostras de queijo e leite de ovelha (Ducková *et al.*, 2009; Noguchi *et al.*, 2011; Acurcio *et al.*, 2014; Dec *et al.*, 2019). O consumo de leite de ovelha e seus derivados tem aumentado nos últimos anos, como resultado da busca por leites mais funcionais. Até o momento, poucos estudos abordaram a ocorrência de enterococos resistentes em leite de ovelha e queijos.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

O principal objetivo deste trabalho foi identificar bactérias do gênero *Enterococcus* sp. em leites e queijos de ovelhas, obtidos de produtores do sul do Brasil, quanto à espécie, suscetibilidade aos antimicrobianos e presença de genes de resistência e virulência, a fim de identificar possíveis cepas para estudos futuros de avaliação do potencial probiótico.

2.2 ESPECÍFICOS

2.2.1 Identificar bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus* sp. De amostras de leites e queijos de ovelha;

2.2.2 Avaliar o perfil fenotípico e genotípico (*tetM*, *tetL*, *ermB* e *mrsC*) de resistência antimicrobiana, avaliando antibióticos empregados na clínica humana e veterinária, e presença de fatores determinantes de virulência (*ace*, *agg*, *cylA* e *ge/E*) em cepas sensíveis aos antimicrobianos.

2.2.3 Selecionar cepas sem essas características para estudos futuros sobre seu potencial uso como probióticos.

3. RESULTADOS

Conforme as normas vigentes para elaboração de teses e dissertações do Programa de Pós-Graduação em Biociências da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, os resultados obtidos no presente estudo serão apresentados a seguir em formato de manuscrito de artigo científico redigido em inglês, de acordo com as orientações disponibilizadas pela publicação de escolha dos autores.

TÍTULO DO ARTIGO: Resistant enterococci isolated from raw sheep's milk and cheeses from South region of Brazil

PERIÓDICO ESCOLHIDO PARA SUBMISSÃO: Ciência Rural

MANUSCRIPT ID: CR-2022-0288.R2.

DOI: [10.1590/0103-8478cr20220288](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220288)

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, *Enterococcus* spp. foram isolados de leites e queijos ovinos. *Enterococcus faecalis* foi a espécie mais identificada tanto em leites (58,75%) quanto em queijos (42,11%). Alta porcentagem de isolados não susceptíveis a pelo menos um antimicrobiano foi demonstrada, sendo tetraciclina, eritromicina, nitrofurantoína, rifampicina e estreptomicina os antimicrobianos com maiores taxas de resistência e/ou resistência intermediária entre as amostras. O gene *tetM* foi encontrado em maior número dos isolados resistentes a tetraciclina que o gene *tetL*. Enquanto o gene *mrsC* apresentou mesma prevalência que o gene *ermB* em isolados de amostras de leites (21,05%), mas maior prevalência que o gene *ermB*, em isolados de queijos resistentes a eritromicina, 34,88% e 2,33%, respectivamente. A fonte desta bactéria nestes alimentos é incerta, visto que várias podem ser sua forma de contaminação. A presença de genes de resistência e virulência é um alerta para que melhor controle higiênico seja feito, na tentativa de eliminar contaminantes, visto a capacidade deste gênero bacteriano de adquirir estes genes de outras bactérias. Também foram encontrados isolados que apresentaram suscetibilidade a todos antimicrobianos testados e nenhum dos genes, resistência e virulência, testados, tornando-os candidatos para futuros estudos sobre seu potencial uso como probiótico, seja no uso animal ou humano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASMAE, B.; *et al.* Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from Estonian cattle and swine from 2010 to 2015. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 61, n.1, p. 5, 2019.

ABRIOUEL, H. *et al.* Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetables foods, water and soil, and clinical samples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 123, n. 1-2, p. 38-49, 2008.

ACURCIO, L. B.; *et al.* Isolation, enumeration, molecular identification and probiotic potential evaluation of lactic acid bacteria isolated from sheep milk. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 940-948, 2014.

ANDREOTTI, R.; NICODEMO, M.L.F. Uso de antimicrobianos na produção de bovinos e desenvolvimento de resistência. EMBRAPA, ISSN 1517-3747, 144, 2004.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO-RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 241, de 26 de julho de 2018.

AHMED, M. O.; BAPTISTE, K. E. Vancomycin-resistant enterococci: A review of antimicrobial resistance mechanisms and perspectives of human and animal health. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 5, p. 590-606, 2018.

ALAGAWANY, M.; *et al.* The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 11, p. 10611-10618, 2018.

ANGELAKIS, E. Weight gain by gut microbiota manipulation in productive animals. **Microbial Pathogenesis**, v. 106, p. 162-170, 2017.

ANTONELLO, V.S.; *et al.* *Enterococcus gallinarum* meningitis in an immunocompetent host: a case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 111-112, 2010.

BALTHAZAR, C.F.; *et al.* Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol 16, n 2, p 247-262, 2017.

BECKER, B.; COOPER, M.A. Aminoglycoside antibiotics in the 21st Century. **ACS Chemical Biology**, v. 8, n. 1, p. 105-115, 2013.

BENNANI, H.; *et al.* Overview of evidence of antimicrobial use and antimicrobial

resistance in the food chain. **Antibiotics**, v. 9, n. 2, 49, 2020.

BEN-SAID, L. et al. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic lineages of *Enterococcus* spp. from vegetable food, soil and irrigation water in farm environments in Tunisia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.96, n. 5, p. 1627-1633, 2015.

BERTELLONI, F.; et al. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. isolated from laying hens of backyard poultry flocks. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 22, n. 4, p. 665-669, 2015.

BESTER, L. A.; ESSACK, Sabiha Y. Antibiotic resistance via the food chain: fact or fiction? **South African Journal Science**, Pretoria, v. 106, n. 9-10, p. 1-5, 2010.

BHARDWAJ, A.; MALIK R.K.; CHAUHAN P. Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. **Indian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 317-325, 2008.

BILEK, H. C.; et al. *Enterococcus hirae* as a cause of bacteremic urinary tract infection: first case report from Turkey. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 14, n. 12, p. 1480-1482, 2020.

BORDINI, F.W.; et al., Avaliação microbiológica de queijo tipo colonial mediante presença ou ausência de certificação comercial no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Tecnologia e Agroindústria**, v. 14, n. 01, p. 3212-3227, 2020.

BRAIEK, O.B.; SMAOUI, S. Enterococci: Between emerging pathogens and potential probiotics. **BioMed Research International**, 2019:5938210, 2019.

Brasil. **Instrução Normativa nº1 de 13 de janeiro de 2020**. Proibir, em todo território nacional, a importação, a fabricação, a comercialização e o uso de aditivos melhoradores de desempenho que contenham os antimicrobianos tilosina, lincomicina, e tiamulina, classificados como importantes na medicina humana, na forma desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União. Brasília, 23 jan. 2020. Edição 16 Seção 1, p. 6.

Brasil. **Instrução Normativa nº26 de 9 de julho de 2009**. Aprovar o REGULAMENTO TÉCNICO PARA A FABRICAÇÃO, O CONTROLE DE QUALIDADE, A COMERCIALIZAÇÃO E O EMPREGO DE PRODUTOS ANTIMICROBIANOS DE USO VETERINÁRIO, na forma dos Anexos a presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União. 10 jul 2009.

BRAYER, S.; et al. *Enterococcus hirae* Bacteremia in an Infant: Case Report and Review of the Literature. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 8, n. 6, p. 571-573, 2019.

BROM, R.; et al. Zoonotic risks of pathogens from sheep and their milk borne transmission. **Small Ruminant Research**, 189: 106123, 2020.

CAMPBELL, E. A.; et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. **Cell**, v. 104, n. 6, p. 901-912, 2001.

CAMPOS, A. C. F. Borges de et al. Resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de frango. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 575-580, 2013.

CARIOLATO, D.; ANDRIGHETTO, C.; LOMBARDI, A. Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. **Food Control**, v. 19, n. 9, p. 886-892, 2008.

CARVALHO, M. M.; LINDNER, Juliano D.; FARIÑA, Luciana O. A produção de queijo colonial artesanal no município de Seara, estado de Santa Catarina, frente à legislação brasileira. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 5, p. 253-261, 2015.

CARVALHO, M. M.; et al. Traditional colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n 11, p 9711-9720, 2019.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100 (ISBN 1-56238- 838-X [Print]; ISBN 1-56238-839-8 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Roas, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2018.

CHOW, J. W. Aminoglycoside resistance in Enterococci. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n. 2, p. 586-589, 2000.

DALTOÉ, V. C. B.; et al. Caracterização da produção artesanal de queijo colonial na região do Vale do Taquari. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 3, n. 4, p 7732- 742, 2017.

DANGERE, S.; et al. *Enterococcus gallinarum* endocarditis occurring on native heart valves. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 2308-2310, 2002.

D'ANGELO, M.; et al. Diversity of volatile organic compound production from leucine and citrate in *Enterococcus faecium*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 3, p. 1175-1186, 2019.

DIEKEMA, D. J.; JONES, R. N. Oxazolidinone antibiotics. **Lancet**, v. 358, n. 9297, p.1975-1982, 2001.

DOLKA, B.; et al. Prevalence, antibiotic susceptibility and virulence factors of *Enterococcus* species in racing pigeons (*Columba livia f. domestica*). **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1: 7, 2020.

DONOWITZ, G. R; MANDELL, G. L. Beta-lactam antibiotics (1). **New England Journal of Medicine**, v. 318, n. 7, p. 419-426, 1988.

DWORNICZEK, E.; et al. *Enterococcus* in wound infections: virulence and antimicrobial

resistance. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 59, n. 2, p. 263-269, 2012.

ENDRES, C.M.; *et al.* Molecular characterization of the bacterial communities present in sheep's milk and cheese produced in South Brazilian Region via 16S rRNA gene metabarcoding sequencing. **LWT - Food Science and Technology**, v. 147, n. 8, 111579, 2021.

ESTEBAN-BLANCO, C.; *et al.* Microbiota characterization of sheep milk and its association with somatic cell count using 16s rRNA gene sequencing. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 137, n. 1, p. 73-83, 2019.

EZELARAB, H. A. A.; *et al.* Recent updates of fluoroquinolones as antibacterial agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 351, n. 9, e1800141, 2018.

FACKLAM, R. R.; COLLINS, M. D. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. **Journal of clinical microbiology**, v. 27, n. 4, p. 731-734, 1989.

FERNANDES, M. S.; *et al.* Dissemination of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in a ricotta processing plant and evaluation of pathogenic and antibiotic resistance profiles. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 4, p. M765-75, 2015.

FIGLIORE, E.; TYNE, D.V.; GILMORE, M.S. Pathogenicity of Enterococci. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 4, 10, 2019.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology (Reading)**, v. 155, n. 6, p. 1749-1757, 2009.

FOULQUIÉ-MORENO, M. R. F.; *et al.* The role and application of enterococci in food and health. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 1-24, 2006.

FRANZ, C. M. A. P.; HOLZPFEL, W. H.; STILES, M. E. Enterococci at the crossroads of food safety? **International Journal of Food Microbiology**, v. 47, p. 1-24, 1999.

GAGETTI, P.; *et al.* Resistance to β -lactams in enterococci. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 51, n. 2, p. 179-183, 2019.

GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, e00058-18, 2019.

GARRIDO, A. M.; GÁLVEZ, A.; PULIDO, R. P. Antimicrobial resistance in *Enterococci*. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**, v. 2, n. 4, 2014.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2/3, p. 215-222, 2003.

GONÇALVES, M.T.P.; *et al.* Bacterial communities in serpa cheese by culture dependent

techniques, 16S *rRNA* gene sequencing and high-throughput sequencing analysis. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 5, p. 1333-1341, 2018

GRAHAM, K.; STACK, H.; REA, R. Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications – a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 22, p. 3836-3861, 2020.

GRASSOTTI, T.T., *et al.* Antimicrobial Resistance profiles in *Enterococcus* spp. isolates from fecal samples of wild and captive black capuchin monkeys (*Sapajus nigritus*) in south Brazil. **Frontiers in Microbiology**, 9: 2366, 2018.

GROSSMAN, T. H. Tetracycline antibiotics and resistance. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 6, n. 4 a025387, 2016.

HAMDY, A. M.; *et al.* Enhancement of low-fat Feta cheese characteristics using probiotic bacteria. **Food Science and Nutrition**, v. 9, p. 62-70, 2020.

HANCHI, H.; *et al.* The genus *Enterococcus*: Between probiotic potential and safety concerns – An update. **Frontiers in Microbiology**, v. 9: 1791, 2018.

HASS, W.; SHEPARD, B. D.; GILMORE, M. S. Two-component regulator of *Enterococcus faecalis* cytolysin responds to quorum-sensing autoinduction. **Nature**, v. 415, p. 84-85, 2002.

HATTI-KAUL, R.; *et al.* Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals. **FEMS Microbiology Letters**, v. 365, n. 20, 2018.

HIGUITA N.I.A; HUYCKE M.M. Enterococcal disease, epidemiology, and implications for treatment. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, *et al.*, editors. **Enterococci: From commensals to leading causes of drug resistant infection [internet]**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.

HOLLENBECK, B. L.; RICE, L. B. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. **Virulence**, v. 3, n. 5, p. 421-433, 15 2012.

HUTTNER, A.; *et al.* Nitrofurantoin revisited: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 9, p. 2456-2464, 2015.

IWERIEBOR, B.C.; OBI, L.C.; OKOH, A.L. Macrolide, glycopeptide resistance and virulence genes in *Enterococcus* species isolates from dairy cattle. **Journal of Medical Microbiology**, v. 65, n. 7, p. 641-648, 2016.

JACOBY, G. A. Transmissible antibiotic resistance. In: Fong I., Shlaes D., Drlica K. (eds) *Antimicrobial Resistance in the 21st Century. Emerging Infectious Diseases of the 21st Century*. Springer, Cham. 2018.

JANDAL, J.M. Comparative aspects of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 22, n. 2, p. 177-185, 1996.

JANNATI, E.; *et al.* Fecal carriage of high-level aminoglycoside and ampicillin-resistant *Enterococcus* species in healthy Iranian children. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 20, p. 135-144, 2020.

JEDNACAK, T.; MIKULANDRA, I.; NOVAK, P. Advanced Methods for Studying Structure and Interactions of Macrolide Antibiotics. **International Journal of Molecular Sciences**, 21, 7799, 2020.

JOHNSON, E.M.; *et al.* Bacteriocins as food preservatives: Challenges and emerging horizons. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 16, p. 2743 -2767, 2017.

KATSOURI, E.; *et al.* Nutritional characteristics of prepacked feta PDO cheese products in Greece: Assessment of dietary intakes and nutritional profiles. **Foods**, v. 9, n. 3, p. 253, 2020.

KAYSER, F.H. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2-9, p. 255 - 262, 2003.

KENZAKA, T.; *et al.* A case of subacute infective endocarditis and blood access infection caused by *Enterococcus durans*. **BMC Infectious Diseases**, v.13: 594, 2013.

KIM, S.K.; *et al.* Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 9, p. 1335-1340, 2019.

KIM, Y.B.; *et al.* Molecular characterization of erythromycin and tetracycline-resistant *Enterococcus faecalis* isolated from retail chicken meats. **Poultry Science**, v. 98, n.2, p. 977-983, 2019.

KIRUTHIGA, A.; *et al.* Improved detection of *esp*, *hyl*, *asa1*, *gelE*, *cylA* virulence genes among clinical isolates of Enterococci. **BMC Research Note**, v. 13, n. 1: 170, 2020.

KRAUSE, K.M.; *et al.* Aminoglycosides: An overview. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 6, a027029, 2016.

KRISTICH, C.J.; RISE, L. B.; ARIAS, C. A. Enterococcal infection – Treatment and antibiotic resistance. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. **Enterococci: From Commensals to leading causes of drug resistant infection [internet]**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.

LAUKOVÁ, A.; *et al.*, Some safety aspects of enterococci isolated from Slovak lactic acid dairy product “žinčica”. **Folia Microbiologica**, v. 65, p. 79-85, 2020.

LEBRETON, F.; WILLEMS, R. J. L.; GILMORE, M. S. *Enterococcus* diversity, origins in nature, and gut colonization. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. **Enterococci: From commensals to leading causes of drug resistant infection [internet]**. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.

LUKÁSOVÁ, J.; SUSTÁCKOVÁ, A. Enterococci and antibiotic resistance. **Acta Veterinaria Brno**, v. 72, n. 2, p. 315-323, 2003.

MADRAU, M. A.; *et al.* Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese

manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 8, p 876 – 885, 2006.

MANNU, L.; PABA, A. Genetic diversity of lactococci and enterococci isolated from home-made Pecorino Sardo ewes' milk cheese. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n. 1, p. 55-62, 2002.

MARSCHALL, E.; CRYLE, M.J.; TAILHADES, J. Biological, chemical, and biochemical strategies for modifying glycopeptide antibiotics. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 49, p. 18769-18783, 2019.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº1, de 13 de janeiro de 2020.

MEENA, S.; *et al.* Revisiting nitrofurantoin for vancomycin resistant enterococci. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 11, n. 6, p. 19-22, 2017.

MERCURO, N. J.; *et al.* Combatting resistant enterococcal infections: a pharmacotherapy review. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 19, n. 9, p. 979- 992, 2018.

MINGEOT-LECLERCQ, M. P.; GLUPCZYNSKI, Y.; TULKENS P. M. Aminoglycosides: activity and resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 43, n. 4, p. 727-737, 1999.

MOHAPATRA, A.; SHINDE, A.K.; SINGH, R. Sheep milk: a pertinent functional food. **Small Ruminant Research**, v. 181, p. 6-11, 2019.

MUNITA, J.M.; ARIAS C.A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 2, 10.1128, 2016.

MURRAY, B. E. Vancomycin-resistant enterococcal infections. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 10, p. 710-721, 2000.

OGAKI, M.B.; FURLANETO, M.C.; MAIA, L. F. Revisão: Aspectos gerais das bacteriocinas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 267-276, 2015.

OIKOMONOU, G.; *et al.* Milk microbiota: What are we exactly talking about? **Frontiers in Microbiology**, v. 1: 60.

PARK, Y. W.; *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 88-113, 2007.

PHILLIPS, O. A.; SHARAF, L. H. Oxazolidinone antimicrobials: a patent review (2012-2015). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 26, n. 5, p. 591-605, 2016.

PILLAY, S.; ZISHIRI, O. T.; ADELEKE, M. A. Prevalence of virulence genes in *Enterococcus* species isolated from companion animals and livestock. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 85, n. 1, e1 – e8, 2018.

PINKES, M.E.; WHITE, C., WONG, C.S. Native-valve *Enterococcus hirae* endocarditis: a

case report and review of the literature. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, 891, 2019.

PRICHULA, J.; *et al.* Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e diversidade das espécies de enterococos isolados de leite cru de búfalas no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, p. 104-109, 2013.

QUIGLEY, L.; *et al.* The complex microbiota of raw milk. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 5, p. 664-698, 2013.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; *et al.* Composition of goat and sheep milk products: An update. **Small Ruminant Research**, v. 79, n.1, p. 57-72, 2008.

RAZA, T.; *et al.* Vancomycin resistant enterococci: A brief review. **The Journal of the Pakistan Medical Association**, v. 68, n.5, p. 768-772, 2018.

RIBEIRO, L. C.; *et al.* Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 438-444, 2007.

RICE, L. B. Antimicrobial pressure and the emergence and spread of multiresistant enterococci. **Postgraduate Medicine**, v. 109, n. 2, p.22-31, 2001.

ROBERTS, M. C.; SCHWARZ, S. Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: importance for agriculture, the environment, and humans. **Journal of Environmental quality**, v. 45, n. 2, p. 576-592, 2016.

RÓŻAŃSKA, H.; *et al.* Occurrence of enterococci in mastitic cow's milk and their antimicrobial resistance. **Journal of Veterinary Research**, v. 63, n.1, p.93-97, 2019.

RUBINSTEIN, E.; KEYNAN, Y. Vancomycin-resistant Enterococci. **Critical Care Clinics**, v. 29, n. 4, p. 841-852, 2013.

SAIDI, V.; *et al.* Bioactive characteristics of a semi-hard non-starter culture cheese made from raw or pasteurized sheep's milk. **3 Biotec**, v. 10, n. 85, 2020.

SANLIBABA, P.; TEZEL, B.U.; SENTURK, E. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from Chicken in Turkey. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 38, n. 2, p. 391-402, 2018.

SCHWARZ, S.; *et al.* Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, n. 5, p. 519-542, 2004.

SCINTU, M. F.; PIREDDA, G. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 221-231, 2007.

SCHLEIFER, K. H. and KILPPER-BALZ, R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 34, n. 1, p. 31-34, 1984.

SERIO, A.; *et al.* *Enterococcus* populations in Pecorino Abruzzese Cheese: Biodiversity and safety aspects. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 7, p. 1561-1568, 2007.

SINGH, K. V.; *et al.* Importance of the collagen adhesin ace in pathogenesis and

protection against *Enterococcus faecalis* experimental endocarditis. **Plos Pathogens**, v. 6, n. 1, p. E1000716, 2010.

SUÁREZ, V.H.; Buseti, M.R. Boletín de Divulgación Técnica INTA, v. 90, p. 195-204, 2006.

STEPIEŃ-PYŚNIAK, D.; *et al.* Biofilm formation capacity and presence of virulence factors among commensal *Enterococcus* spp. from wild birds. **Scientific reports**, v. 9, n.1, 11204, 2019.

TOOKE, C. L.; *et al.* B-lactamases and β -lactamase inhibitors in the 21st century. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 18, p. 3472- 3500, 2019.

TORRES, C.; *et al.* Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. of animal origin. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, ARBA - 0032, 2018.

TUPIN, A.; *et al.* Resistance to rifampicin: at the crossroads between ecological, genomic and medical concerns. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 35, n. 6, p. 519-523, 2010.

UPADHYAYA, P. M.; RAVIKUMAR, K. L.; UMAPATHY, B. L. Review of virulence factors of *Enterococcus*: an emerging nosocomial pathogen. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 27, n. 4, p. 301-305, 2009.

VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 1, p. 6-21, 2015.

VALENZUELA, A.S.; *et al.* Phenotypic and molecular antibiotic resistance profile of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from different traditional fermented foods. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 2, p. 143-149, 2013

VERRAES, C.; *et al.* A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. **International Dairy Journal**, v.50, p. 32-34, 2015.

WIJMA, R.A.; *et al.* Review of the pharmacokinetic properties of nitrofurantoin and nitroxoline. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 11, p. 2916-2926, 2018.

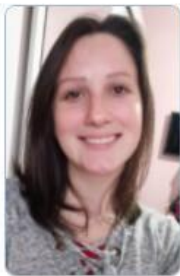
World Health Organization. 2017. **Antimicrobial resistance in the food chain**. Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/areas_work/antimicrobial-resistance/amrfoodchain/en/#

WU, C.; Huang, J; Zhou, R. Genomics of lactic acid bacteria: Current status and potential applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 393-404, 2017.

ZENG, D.; *et al.* Approved glycopeptide antibacterial drugs: Mechanism of action and resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**.

ZOU, L.K.; *et al.* Erythromycin resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* from swine in China. **New Microbiomol**, v. 34, n.1, p.73-80, 2011.

ZUCATTI, K.P.; CZARNOBAY M.; NESPOLO, C.R. Ovinocultura leiteira na serra gaúcha: Composição do leite de diferentes propriedades e perspectivas para o setor. **5º Simpósio de Segurança Alimentar: Alimentação e Saúde**, 2015.



Débora Buzatto de Souza

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/4046140554796186>

ID Lattes: **4046140554796186**

Última atualização do currículo em 09/10/2020

Biomédica formada pelo Centro Universitário Ritter dos Reis - UniRitter, habilitada em microbiologia de alimentos e análises clínicas. Mestranda no PPG Biociências pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA (**Texto informado pelo autor**)

Identificação

Nome Débora Buzatto de Souza

Nome em citações bibliográficas SOUZA, D. B.

Lattes iD <http://lattes.cnpq.br/4046140554796186>

Endereço

Formação acadêmica/titulação

- 2019** Mestrado em andamento em BIOCIÊNCIAS (Conceito CAPES 4).
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Brasil.
Título: Isolamento e caracterização de Enterococcus com atividade bacteriogênica em amostras de leite e queijos de ovelha, Orientador: Ana Paula Guedes Frazzon.
Coorientador: Jeverson Frazzon.
- 2015 - 2018** Graduação em Biomedicina.
Centro Universitário Ritter dos Reis, UniRITTER, Brasil.
- 2012 - 2014** Ensino Médio (2º grau).
Instituto de Educação São Francisco, SF, Brasil.

Formação Complementar

- 2017 - 2017** ANTIBIOGRAMA COMO INTERPRETAR? BIOSCIENCE. (Carga horária: 2h).
Centro Universitário Ritter dos Reis, UniRITTER, Brasil.

Atuação Profissional

Laboratório Acqualab, Acqualab, Brasil.

Vínculo institucional

2018 - 2018 Vínculo: Estágio, Enquadramento Funcional: Análise microbiológica de alimentos, Carga horária: 30, Regime: Dedicação exclusiva.

Analysis Laboratório, ANALYSIS, Brasil.

Vínculo institucional

2018 - 2018 Vínculo: Estágio, Enquadramento Funcional: Análises Clínicas, Carga horária: 30, Regime: Dedicação exclusiva.

Idiomas

Inglês Compreende Pouco, Fala Pouco, Lê Pouco, Escreve Pouco.

Produções

Produção bibliográfica

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Congresso Brasileiro de Hematologia Laboratorial (CBHL 2020). 2020. (Congresso).
2. Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade. 2019. (Congresso).
3. I Simpósio da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - RS. 2017. (Simpósio).
4. Workshop - Imuno-Hemoterapia. 2017. (Outra).
5. XV Congresso Brasileiro de Biomedicina e III Congresso Internacional de Biomedica. 2016. (Congresso).
6. 1ª Semana Acadêmica da Saúde FAPA. 1ª Semana Acadêmica da Saúde FAPA. 2015. (Feira).