

**José Max Barbosa de Oliveira Junior  
(Organizador)**

# **Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

José Max Barbosa de Oliveira Junior  
(Organizador)

# Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof.<sup>a</sup> Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
A532	Análise crítica das ciências biológicas e da natureza 3 [recurso eletrônico] / Organizador José Max Barbosa de Oliveira Junior. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza; v. 3)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-359-0 DOI 10.22533/at.ed.590192705  1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Oliveira Junior, José Max Barbosa de. II. Série.  CDD 610.72
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A obra *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora. Com 96 capítulos apresenta uma visão holística e integrada da grande área das Ciências Biológicas e da Natureza, com produção de conhecimento que permeiam as mais distintas temáticas dessas grandes áreas.

Os 96 capítulos do livro trazem conhecimentos relevantes para toda comunidade acadêmico-científica e sociedade civil, auxiliando no entendimento do meio ambiente em geral (físico, biológico e antrópico), suprimindo lacunas que possam hoje existir e contribuindo para que os profissionais tenham uma visão holística e possam atuar em diferentes regiões do Brasil e do mundo. As estudos que integram a *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* demonstram que tanto as Ciências Biológicas como da Natureza (principalmente química, física e biologia) e suas tecnologias são fundamentais para promoção do desenvolvimento de saberes, competências e habilidades para a investigação, observação, interpretação e divulgação/interação social no ensino de ciências (biológicas e da natureza) sob pilares do desenvolvimento social e da sustentabilidade, na perspectiva de saberes multi e interdisciplinares.

Em suma, convidamos todos os leitores a aproveitarem as relevantes informações que o livro traz, e que, o mesmo possa atuar como um veículo adequado para difundir e ampliar o conhecimento em Ciências Biológicas e da Natureza, com base nos resultados aqui dispostos.

Excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
INIBIÇÃO DA PEÇONHA DE <i>Bothrops alternatus</i> (URUTU) 'IN VIVO' PELO PRINCÍPIO ATIVO ISOLADO VEGETAL LUPEOL	
Benedito Matheus dos Santos Klaus Casaro Saturnino Vanderlúcia Fonseca de Paula Mirian Machado Mendes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927051</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>7</b>
INVESTIGAÇÃO DAS ATIVIDADES TÓXICA, ANTIDIARREICA E ANTIESPASMÓDICA DAS PARTES AÉREAS DE <i>SIDA RHOMBIFOLIA</i> L. (MALVACEAE)	
Rafael Lima Marinho Paiva Antônio Raphael Lima de Farias Cavalcanti Rayane Fernandes Pessoa Indyra Alencar Duarte Figueiredo Sarah Rebeca Dantas Ferreira Otemberg Souza Chaves Micaelly da Silva Oliveira Maria de Fátima Vanderlei de Souza Fabiana de Andrade Cavalcante	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927052</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
INVESTIGAÇÃO DE LECTINA E INIBIDOR DE TRIPSINA EM TUBÉRCULOS DE INHAME ( <i>Dioscorea alata</i> ) CULTIVADO NO NORDESTE DO BRASIL	
Julia Mariano Caju de Oliveira Edilza Silva do Nascimento Tatiane Santi Gadelha Carlos Alberto de Almeida Gadelha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927053</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>38</b>
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ALERGÊNICOS ENCONTRADOS EM PEÇAS ANATÔMICAS HUMANAS CONSERVADAS EM SOLUÇÃO DE FORMALDEÍDO	
Hércules Gonçalves de Almeida Medeiros Adna Cristina Barbosa de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927054</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>50</b>
MEIO AMBIENTE GENÉTICO E EMBRIÕES EXCEDENTÁRIOS	
Odair Bufolo Daiane Silva Berdusco Freire Andréia de Fátima Selvati Bredariol	
<b>DOI 10.22533/at.ed.5901927055</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 62**

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS PROPANOICO E ACÉTICO POR PROPIONIBACTERIUM ACIDIPROPIONICI ADSORVIDA EM MONTMORILONITA K-10

Taciani do Santos Bella de Jesus  
Lucidio Cristovão Fardelone  
Gustavo Paim Valença  
José Roberto Nunhez  
José Augusto Rosário Rodrigues  
Paulo José Samenho Moran

**DOI 10.22533/at.ed.5901927056**

**CAPÍTULO 7 ..... 72**

PRODUÇÃO DE B-GLUCANASES E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E REDUÇÃO DE BIOFILME DE *Candida albicans*

Glaucia Hollaender Braun  
Henrique Pereira Ramos  
Maria Laura Lucas Natal  
Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro

**DOI 10.22533/at.ed.5901927057**

**CAPÍTULO 8 ..... 80**

PRODUCTION AND STABILITY OF LIPASE AND PECTINASE PRESENT IN AGROINDUSTRIAL RESIDUES

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome  
Carlos Eduardo de Araújo Padilha  
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais  
Maria Cecília Bezerra Caldas  
Everaldo Silvino dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.5901927058**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE UM CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO APÓS ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TiO<sub>2</sub>

Luis Eduardo Genaro  
Luana Mafra Marti  
Ana Carolina Bosco Mendes  
Rafael Amorim Martins  
Angela Cristina Cilense Zuanon

**DOI 10.22533/at.ed.5901927059**

**CAPÍTULO 10 ..... 91**

PURIFICATION OF A XYLANASE FROM *Penicillium crustosum* AND ITS POTENTIAL USE IN CLARIFYING FRUIT JUICE

Jaina Caroline Lunkes  
Vanessa Cristina Arfelli  
Jorge William Fischdick Bittencourt  
Rafael Andrade Menolli  
Alexandre Maller  
Jose Luís da Conceição Silva  
Rita de Cássia Garcia Simão  
Marina Kimiko Kadowaki

**DOI 10.22533/at.ed.59019270510**

**CAPÍTULO 11 ..... 101**

SENSIBILIDADE CELULAR E DE BIOFILME DE *Enterococcus* sp. AOS DESINFETANTES DE USO INDUSTRIAL

Luciana Furlaneto Maia  
Naieli Mücke  
Márcia Regina Terra  
Danielle Karine Ohashi  
Talita Butzke Bússolo  
Márcia Cristina Furlaneto

**DOI 10.22533/at.ed.59019270511**

**CAPÍTULO 12 ..... 115**

SIMULAÇÃO NUMÉRICA DA PROPAGAÇÃO DE ONDAS CISALHANTES EM ROCHAS SEDIMENTARES A PARTIR DE IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS DE RAIOS X

Túlio Medeiros  
José Agnelo Soares  
Ronildo Otávio de Oliveira Neto  
Juliana Targino Batista

**DOI 10.22533/at.ed.59019270512**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

STABILITY OF PECTINASE OF ASPERGILLUS NIGER IOC 4003 IN DIFFERENT SALTS FOR PURIFICATION IN BIPHASIC AQUEOUS SYSTEM

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome  
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais  
Carlos Eduardo de Araújo Padilha  
Everaldo Silvino dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.59019270513**

**CAPÍTULO 14 ..... 131**

TÉCNICA DE FISH APLICADA NA IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA DE REATOR DE LODO ATIVADO UTILIZADO NA DEGRADAÇÃO DE BLENIDAS

Lívia Cordi  
Nelson Durán

**DOI 10.22533/at.ed.59019270514**

**CAPÍTULO 15 ..... 142**

TEMPERATURE AND pH EFFECTS ON THE ACTIVITY AND STABILITY OF THR XYLANASES PRODUCED BY THE THERMOPHILIC FUNGUS *Rasamsonia emersonii* S10

Jéssica de Araujo Zandoni  
Eleni Gomes  
Gustavo O. Bonilla-Rodriguez

**DOI 10.22533/at.ed.59019270515**

**CAPÍTULO 16 ..... 147**

TRIAGEM DE TRATAMENTO DE *Luffa cylindrica* PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Saccharomyces cerevisiae* VISANDO A PRODUÇÃO DE INVERTASE

Beatriz Paes Silva  
Brenda Kischkel  
Nicolle Ramos dos Santos  
André Álvares Monge Neto

**DOI 10.22533/at.ed.59019270516**

**CAPÍTULO 17 ..... 159**

AÇÃO FIBRINOLÍTICA DE PROTEASES PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES AMAZÔNICOS

Thayana Cruz de Souza  
Anni Kelle Serrão de Lima  
Michele Silva de Jesus  
Raimundo Felipe da Cruz Filho  
Wim Maurits Sylvain Degrave  
Leila de Mendonça Lima  
Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270517**

**CAPÍTULO 18 ..... 164**

ÁCIDO CÍTRICO: UM ENFOQUE MOLECULAR

Letícia Fernanda Bossa  
Daniele Sartori

**DOI 10.22533/at.ed.59019270518**

**CAPÍTULO 19 ..... 174**

ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DE MANGUEZAL E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Gabriela Xavier Schneider  
Jean Carlos Ramos de Almeida  
Kassiely Zamarchi  
Débora Santos  
Danyelle Stringari  
Renata Rodrigues Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270519**

**CAPÍTULO 20 ..... 188**

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS COM A CAPACIDADE DE BIODEGRADAÇÃO DO HERBICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

Juliana Barbosa Succar  
Andressa Sbrano da Silva  
Lidiane Coelho Berbert  
Vinícius Ribeiro Flores  
João Victor Rego Ferreira  
Alexander Machado Cardoso  
Ida Carolina Neves Direito

**DOI 10.22533/at.ed.59019270520**

**CAPÍTULO 21 ..... 199**

REABILITAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO DE QUARTZITO COM INSTALAÇÃO DE USINA SUSTENTÁVEL

Gabriel Silva Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.59019270521**

<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>218</b>
COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DAS FOLHAS DE <i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez (LAURACEAE)	
Viviane Mallmann	
Lucas Wagner Ribeiro Aragão	
Edineia Messias Martins Bartieres	
Valdeci José Pestana	
Shaline Séfara Lopes Fernandes	
Rogério César de Lara da Silva	
Tauane Catilza Lopes Fernandes	
Ana Francisca Gomes da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270522</b>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>223</b>
CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae) EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS COMPOSTOS COM RESÍDUOS DE CASTANHA-DO-BRASIL	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270523</b>	
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	<b>236</b>
SUBSTRATOS ORGÂNICOS NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae)	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.59019270524</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>253</b>

## SENSIBILIDADE CELULAR E DE BIOFILME DE *Enterococcus* sp. AOS DESINFETANTES DE USO INDUSTRIAL

**Luciana Furlaneto Maia**  
**Naieli Mücke**  
**Márcia Regina Terra**  
**Danielle Karine Ohashi**  
**Talita Butzke Bússolo**  
**Márcia Cristina Furlaneto**

**RESUMO:** *Enterococcus* sp. podem ser isolados de seres humanos, diversos animais e ambiente; possui alta tolerância a fatores extremos como pH, temperatura e concentração salina. É crescente seu potencial como agentes causadores de sérias infecções, podendo adquirir alta resistência a antimicrobianos e biocidas. Os equipamentos na indústria alimentícia estão propensos à alta contaminação microbiológica devido à presença de substratos para os microrganismos, e quando não higienizados permitem que estes se desenvolvam e formem biofilmes, contaminando o produto final. Este estudo teve por finalidade analisar a sensibilidade de isolados de *Enterococcus* sp provenientes de equipamentos processos de embutidos cárneos cozidos a 5 diferentes desinfetantes de uso industrial. Foram testados a sensibilidade de células planctônicas e em biofilme quando estes estavam suspensos em matéria orgânica e água. Ao avaliar a ação de sanitizantes sobre células de *Enterococcus* sp. na presença de água verificou-se que nenhum

produto utilizado conseguiu ser totalmente eficiente no controle do desenvolvimento dos enterococos. Já nos testes utilizando BHI e sanitizante, os isolados apresentaram menor desenvolvimento somente na presença de espumante alcalino. O maior desenvolvimento microbiano ocorreu na presença dos produtos dióxido de cloro, hipoclorito de sódio, quartenário de amônia e ácido peracético. Observamos que independente do tipo de sanitizantes e biofilme formado, nenhum agente químico foi eficaz na eliminação total das células de *Enterococcus*. Indispensável ressaltar que os resultados confirmam a importância de ações preventivas nas indústrias para evitar a resistência dos micro-organismos a determinados compostos e maximizar a eficiência dos procedimentos de higienização aplicados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Enterococci. Planctônicas. Resistência.

### CELL AND BIOFILME SENSITIVITY OF *Enterococcus* sp. TO INDUSTRIAL USE DISINFECTANTS

**ABSTRACT:** *Enterococcus* sp. can be isolated from humans, various animals and the environment; has high tolerance to extreme factors like pH, temperature and saline concentration. It is increasing its potential as

agents causing serious infections, being able to acquire high resistance to antimicrobials and biocides. The equipment in the food industry is prone to high microbiological contamination due to the presence of substrates for the microorganisms, and when unhygienic they allow them to develop and form biofilms, contaminating the final product. The aim of this study was to analyze the sensitivity of *Enterococcus* sp isolates from meat cooked sausage processes to 5 different disinfectants for industrial use. The sensitivity of planktonic and biofilm cells were tested when they were suspended in organic matter and water. When evaluating the action of sanitizers on *Enterococcus* sp. in the presence of water it was verified that no product used could be totally efficient in controlling the development of enterococci. In the tests using BHI and sanitizing, the isolates showed less development only in the presence of alkaline foaming. The greatest microbial development occurred in the presence of the products chlorine dioxide, sodium hypochlorite, quaternary ammonia and peracetic acid. We observed that regardless of the type of sanitizers and biofilm formed, no chemical agent was effective in total elimination of *Enterococcus* cells. It is important to emphasize that the results confirm the importance of preventive actions in the industries to avoid the resistance of the microorganisms to certain compounds and to maximize the efficiency of the hygienic procedures applied.

Keywords: Enterococci. Planktonic. Resistance.

## 1 | INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Enterococcus* são descritas como produtoras de L-ácido láctico, homofermentativas, gram-positivas, catalase negativa, anaeróbicas facultativas, produzem ácido L-láctico a partir de hexoses e se diferem dos demais cocos homofermentadores por apresentarem crescimento a 10 e 45°C, a pH 9,6, em presença de até 6,5% de NaCl e 40% de sais biliares (FRANZ, et al., 2003). Mais de 54 espécies de *Enterococcus* são descritas, porém as espécies *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. hirae* são as mais frequentemente encontradas devido à ampla distribuição no meio ambiente (EUZÉBY, 2015).

Os enterococos são bactérias comensais que colonizam o trato digestório de uma ampla gama de hospedeiros vertebrados e, portanto, difundida no meio ambiente (FISHER; PHILLIPS, 2009). São consideradas bactérias autóctones, uma vez que liberadas no meio ambiente são capazes de colonizar diversos nichos, além de possuir capacidade de resistir e de se multiplicar em condições ambientais hostis, com grande potencial para contaminar águas e alimentos (IVERSEN et al., 2002).

Algumas espécies, incluindo os *E. faecalis* e *E. faecium* estão entre os mais importantes microrganismos adquiridos em ambiente hospitalar, são multirresistentes e podem causar infecções graves na corrente sanguínea, do trato urinário, da pele e dos tecidos moles (ARIAS; MURRAY, 2012). Os enterococos são também aceitos como indicadores de contaminação fecal para as águas de recreação (USEPA, 2002),

e têm sido empregados como indicadores de qualidade microbiológica de produtos frescos (JOHNSTON et al., 2006).

Dentre os fatores de virulência deste gênero, destaca-se a capacidade de formar biofilme em superfícies bióticas e abióticas. Os biofilmes microbianos são comunidades constituídas por células sésseis, mono ou multiespécies, aderidas a um substrato, embebidas em uma matriz de EPS, em cuja formação os micro-organismos exibem diferenciados fenótipos, metabolismo, fisiologia e transcrição genética (DONLAN; COSTERTON, 2002). Como etapas importantes para a sua formação, são descritas as adesões iniciais, passando os micro-organismos de seu estilo de vida planctônico ao sésseis, à formação de microlônias, à maturação e ao destacamento de células do biofilme, retornando estas a seu estilo de vida planctônico.

A formação de biofilme ocorre em variados tipos de ambientes bióticos ou abióticos. Pesquisas sobre a sua formação em superfícies utilizadas na produção de alimentos vêm recebendo destaque, principalmente no que se refere aos malefícios de sua presença. Uma vez constituídos, os biofilmes agem como pontos de contaminação constante, liberando células de micro-organismos patogênicos e/ou deterioradores de alimentos, podendo comprometer a qualidade microbiológica de matérias-primas, produtos pré-acabados e acabados (BERESFORD; ANDREW; SHAMA, 2001; CHEN et al., 2007; FUSTER-VALLS et al., 2008; MANSFELD, 2007).

Outra problemática envolvendo a formação de biofilme na indústria de alimentos é a capacidade das células sésseis serem resistentes aos agentes empregados nos procedimentos de higienização. Alguns pesquisadores relatam que as células sésseis chegam a ser de 500 a 1000 vezes mais resistentes que as células planctônicas (FUSTER-VALLS, 2008). Um dos grandes responsáveis por conferir esta proteção é a matriz de EPS, que age como barreira física, impedindo que os agentes sanitizantes cheguem a seus sítios de ação. O EPS é também capaz de adsorver cátions, metais e toxinas, conferir proteção contra radiações UV, alterações de pH, choques osmóticos e dessecação. Devido a este agravante, conhecer as condições que propiciam a formação de biofilme e as suas fragilidades é primordial para que estratégias de controle, mais econômicas e eficazes, sejam dimensionadas para a eliminação de mais esta possibilidade de introdução de micro-organismos na cadeia alimentar (HERRERA et al., 2007).

Nos alimentos, os *Enterococcus* sp. podem ser encontrados em carnes, legumes, leite e produtos fermentados como os queijos, nos quais desenvolvem um importante papel no processo de maturação e enriquecimento do sabor. Algumas espécies de enterococos são utilizadas na manufatura de alimentos, porém a falta de conhecimento sobre seus fatores de virulência gera insegurança na utilização de cepas deste gênero como culturas fermentadoras e probióticas (GIRAFFA, 2003; FOULQUIÉ-MORENO et al., 2006).

As atividades prejudiciais dos enterococos estão associadas com a deterioração de alimentos e a capacidade de causar doença nos seres humanos. Ainda, em produtos

acabados pode ser considerado como indicador de contaminação fecal (STILES; HOLZAPFEL, 1997). Frequentemente presentes em leite, as bactérias do gênero *Enterococcus* podem contaminá-lo de diversas maneiras, por contato direto com fezes de animais ou por contato indireto através de água contaminada, ar ambiente, pelo de animal ou equipamentos de ordenha e armazenamento (GELSOMINO et al., 2001).

Um dos elementos cruciais para o processamento de alimentos atual é a segurança dos produtos, evitando inclusive a perda de produção e, principalmente, a perda de confiança dos consumidores (DONK et al., 2004). Podemos destacar entre os principais sanitizantes utilizados na indústria de alimentos o ácido peracético, cloraminas orgânicas, clorexidina, compostos de amônia quaternária, dióxido de cloro, hipoclorito de sódio, iodóforos e o peróxido de hidrogênio (ANDRADE; PINTO; ROSADO, 2008).

A utilização incorreta dos sanitizantes, em concentrações inadequadas, pode promover a seleção de algumas espécies bacterianas resistentes (GRAM et al., 2007). Pereira et al., (2000) indicam ainda como interferentes na adesão ligados a topografia da superfície, a composição, rugosidade e porosidade. Os equipamentos e utensílios a serem utilizados durante o processamento de alimentos devem ser desenhados, construídos e instalados de forma adequada, para que se possa assegurar a higiene e permitir à fácil e completa limpeza e sanitização (BRASIL, 1997). Russel (1992) afirma ainda que a temperatura e tempo de contato, a concentração do produto, os resíduos da superfície, o pH, as propriedades físico-químicas da água e substâncias de inativação, especialmente a matéria orgânica podem influenciar na ação dos produtos sanitizantes.

Em relação ao biofilme bacteriano, o sistema de comunicação célula-célula (*quorum sensing* - QS) tem tido grande importância científica, pois nesse sistema as bactérias sintetizam compostos sinalizadores de baixo peso molecular, denominados de autoindutores (AIs), que irão modular e influenciar a formação do biofilme, modulando também outras funções como esporulação, produção de bacteriocinas, expressão de fatores de virulência, produção de proteases e pigmentação, além de favorecer o acesso a nutrientes (VIANA, 2006).

CASTRO (2012) ao avaliar a eficiência dos sanitizantes hipoclorito de sódio, ácido peracético, e clorexidina sobre a formação de biofilme de *E. faecium*, *E. faecalis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* e pela interação destes, em superfície de aço inoxidável, a 25 °C por três dias de armazenamento observou que houve a redução na contagem dos biofilmes formados por *E. faecium*, *E. faecalis*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, porém estes não foram completamente eliminados. Jessen e Lammert (2003) explicam que a remoção de microrganismos de superfícies de contato torna-se muito mais complicada após a formação do biofilme, sendo mais eficiente adotar várias ações combinadas.

Em suma, após a formação do biofilme, os microrganismos que se encontram em seu interior da estrutura são protegidos da remoção quando expostos ao escoamento

de líquidos, alta turbulência e à ação de agentes químicos como os utilizados nos procedimentos de higienização (CLONTZ, 2008), tornando-se portanto, resistentes ao sanitizante.

Neste sentido, este trabalho avaliou a sensibilidade de células planctônicas e de biofilme de *Enterococcus* sp, frente a diversos sanitizantes químicos utilizados na indústria alimentícia.

## 2 | PROCEDIMENTO METODOLOGICO

### 2.1 Isolamento de *Enterococcus* sp.

O isolamento de *Enterococcus* sp. realizou-se através de suabe a partir de equipamentos envolvidos no processamento de embutidos cárneos cozidos. O suabe foi semeado na superfície de ágar canamicina esculina azida (KEA-Himedia), e as placas foram incubadas a 37°C por 24 h. Colônias indicativas de *Enterococcus* sp. (cor negra) foram repicadas em meio ágar infusão cérebro e coração (BHI-Himedia), para a confirmação genotípica.

### 2.2 caracterização genotípica ao nível de gênero

Para a confirmação genotípica foram selecionados 10 colônias bacterianas. A extração de DNA total seguiu o método da fervura (Marques e Suzart, 2004), com modificações. Os isolados foram cultivados em 3 mL de caldo BHI, incubados sob agitação de 180 rpm, a 37°C por 18 horas. Após o crescimento, 1 mL de cada cultivo foi centrifugado por 10 min a 10000 rpm. O sedimento foi ressuspendido em 300  $\mu$ L de água ultrapura esterilizada. A suspensão de células foi aquecida a 100°C por 30 minutos e posteriormente, submetida a um choque térmico em banho de gelo por 5 minutos e novamente centrifugada. Um volume de 150  $\mu$ L do sobrenadante foi removido e armazenado em freezer a -20°C. A reações de PCR (Polimerase Chain Reation) foi realizada em termociclador (Techne-TC3000), em volume final de 20  $\mu$ L, contendo 10  $\mu$ L DNA (10ng/ $\mu$ L), 20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de cada dNTP, 20 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador *tuf* (específico para gênero de *Enterococcus*) (F TACTGACAAACCATTCATGAG; R AACTTCGTACCAACGCGAAC), 2,5U Taq DNA polimerase (Invitrogen).

O termociclador foi programado para realizar uma desnaturação de 94°C por 4 minutos, seguido por 30 ciclos de 95°C a 30 segundos, anelamento a 56°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, e extensão final a 72°C por 10 minutos. O controle negativo continha todos os reagentes, porém sem a amostra de DNA. Os produtos resultantes da amplificação foram separados em gel de agarose a 1,0%, corados com brometo de etídio, visualizado sob luz ultravioleta e fotografados com sistema de fotodocumentação computadorizado (Loccus). O tamanho do produto amplificado esperado (112 pb) foi

comparado com o marcador de DNA ladder (Amersham Pharmacia Biotech).

### 2.3 Determinação da susceptibilidade das células planctônicas aos sanitizantes

Os isolados confirmados genotipicamente, foram submetidos ao teste de susceptibilidade aos sanitizantes químicos. Para tanto, sete formulações de diferentes compostos químicos foram utilizadas, segundo as recomendações de uso pelo fabricante (Tabela 1). A ação biocida foi avaliada em duas diferentes condições, sendo na presença de matéria orgânica, utilizando meio BHI, e na presença de água.

Princípio Ativo	Concentração Indicada pelo Fornecedor	Concentração Utilizada
Espumante alcalino clorado H	2,0%	20 µl/mL
Dióxido de Cloro	100 ppm	1 µl/mL
Hipoclorito de sódio	5 ppm	0,05 µl/mL
Amônia Quaternária M	1,5 %	15 µl/mL
Ácido Peracético	0,30 %	3 µl/mL

Tabela 1 – Descrição dos sanitizantes químicos utilizados na indústria de alimentos e concentração de uso

Fonte: Deion; Mundial Química; AEB Group; Higex; 2013.

Os isolados foram semeados em ágar Mueller-Hinton (MH) e incubados a 37°C por 18 horas. Uma porção da colônia foi selecionada e transferida para tubos contendo água estéril até turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland ( $1 \times 10^8$  UFC/ml). Desta solução, 200 µL foi adicionado em poços de microtitulação seguido do acréscimo de 200 µL de água ou BHI, e a solução sanitizante. As placas foram incubadas a 37°C por 30 minutos. O desenvolvimento microbiano foi avaliado por densidade óptica ( $DO_{490\text{ nm}}$ ), em leitor de Elisa.

Para calcular a concentração inibitória mínima, a leitura da DO foi normalizada. Para a normalização, a DO mensurada no tempo 0 de cada poço, foi denotado como DO background, e subtraído das leituras posteriores. Se houve diferença na DO acima do background, este foi considerado positivo para crescimento bacteriano.

A fim de verificar a viabilidade celular, uma alíquota de 10 µL foi retirada de cada poço e depositada na superfície de ágar KEA. As placas foram incubadas a 37°C por 18 a 24 h, e as colônias formadas foram contadas.

### 2.4 Ação de sanitizante em biofilme de *enterococcus*

A formação do biofilme em superfície de poliestireno foi realizada de acordo com metodologia descrita por Stepanovic et al. (2000). Os isolados de enterococos foram

cultivados a 37°C por 24 horas em meio BHI suplementado com 1% de glicose. A densidade celular foi ajustada até turvação correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland ( $1 \times 10^8$  UFC/ml), e uma alíquota de 200  $\mu$ L de cada suspensão foi transferida para placas de microtitulação de fundo chato. O controle negativo foi o inóculo de caldo sem a presença da bactéria. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, o meio e células planctônicas foram removidas das placas, e os poços lavados com água destilada estéril por três vezes.

Em seguida, foi adicionado o sanitizante nas concentrações indicadas pelos fabricantes. Após 30 minutos o sanitizante foi removido e os poços lavados com água destilada estéril por três vezes. A viabilidade celular foi observada utilizando o sal XTT [2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide], que produz uma coloração vermelho-alaranjado quando reduzido. O sal XTT foi preparado como solução saturada (1 mg/ml em PBS), esterilizado por filtração e estocado a -20°C. A solução utilizada foi diluída na concentração final de 0,5 mg/ml.

A mudança na coloração foi mensurada em  $DO_{490 \text{ nm}}$ . Presença de coloração vermelha-alaranjado indicou viabilidade celular (células vivas). Poços sem cultura bacteriana foram considerados controles negativo.

### 3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram realizados um total de 16 suabes na linha de produção de embutidos cárneos cozidos, sendo selecionado 10 colônias cor negra no ágar KEA, que indica a hidrólise da esculina na presença de bile por espécies de *Enterococcus* sp. As colônias selecionadas que apresentaram coloração negra no meio, característico de *Enterococcus* sp., foram submetidas à identificação molecular (Figura 1A). Como resultado obtivemos que 100% (10 isolados) possuíam o gene *tuf* que identifica o gênero *Enterococcus* sp., cujo tamanho do amplicon foi de 112 pares de base (pb) (Figura 1B).

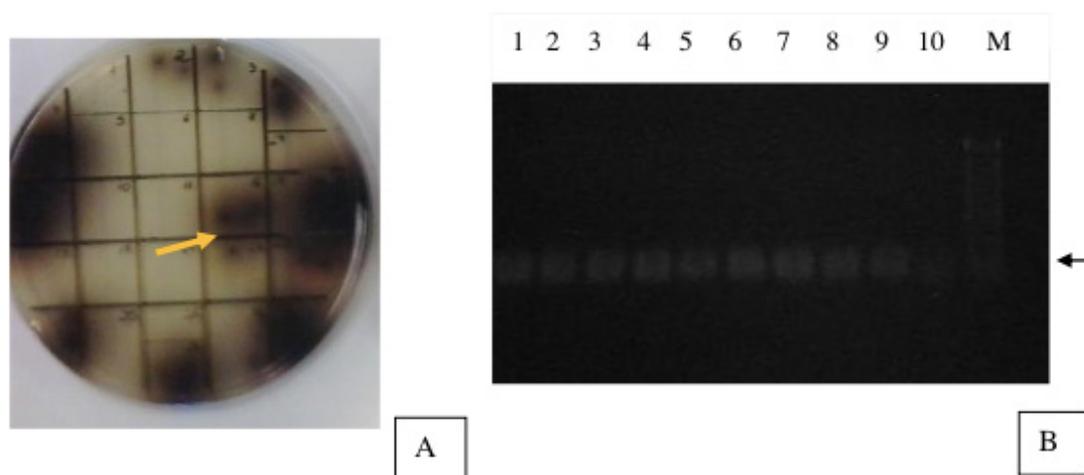


Figura 1 – (A) Colônias negras características do gênero *Enterococcus* em meio KEA

(canamicina esculina ágar); (B) Amplicon de 112 pb (seta preta) correspondente a parte do gene *tuf* que confirma o gênero *Enterococcus*. Numeros de 1 a 10 corresponde aos isolados selecionados. M corresponde ao marcador de peso molecular 1 KbdNA plus.

Neste estudo, observamos a ação de sanitizantes sobre células de *Enterococcus* sp. na presença de água e BHI, após 30 minutos de exposição. A eficiência biocida sobre as células foi realizada pela mensuração da DO, onde o valor da DO mensurada no tempo 0 (T0) foi subtraída da DO mensurada no tempo 30 minutos. DO acima da DO do tempo T0 foi considerado positivo para crescimento bacteriano (tabela 1).

Tempo	Espumante alcalino clorado H		Dióxido de Cloro		Hipoclorito de sódio		Amônia quaternária		Ácido peracético	
	Água	BHI	Água	BHI	Água	BHI	Água	BHI	Água	BHI
<b>30 minutos</b>	82%	29%	86%	100%	46%	100%	89%	86%	18%	100%

Tabela 1 – Porcentual de desenvolvimento celular dos isolados de enterococos em água e BHI contendo sanitizantes

Observa-se que nenhum produto utilizado conseguiu ser totalmente eficiente no controle do desenvolvimento dos enterococos em presença de água e de BHI. Os melhores resultados de ação do sanitizante sobre células de *Enterococcus* ocorreu com o espumante alcalino clorado H em meio BHI e ácido peracético em água. Em alguns casos observamos que o sanitizante não apresentou nenhuma eficiência contra *Enterococcus* sp, a exemplo do dióxido de cloro, hipoclorito de sódio e ácido peracético em meio BHI.

A fim de verificar a capacidade de sobrevivência celular na presença de sanitizantes, foi retirado uma alíquota da cultura e semeado em meio KEA. Observamos o desenvolvimento característico de colônias de *Enterococcus* sp, quando na presença dos produtos químicos, corroborando com os resultados obtidos pela DO, ou seja, os sanitizantes não eliminaram a quantidade de bactéria a níveis esperados, ou próximos aos níveis de segurança microbiológica.

Em nosso estudo, utilizamos o meio BHI para simular a presença de matéria orgânica, pois vários autores atribuem a aficiência dos sanitizantes à matéria-orgânica restante nas superfícies. Beltrame et al. (2012) afirma que o efeito dos sanitizantes pode ser alterado em função das características da superfície, temperatura e tempo de contato, concentração do produto, pH, propriedades físico-químicas da água e especialmente à presença de matéria orgânica. A perda da atividade na presença de matéria orgânica também é descrita nas pesquisas de Gelinás e Goulet (1983) e McDonnell e Russel (1999), variando com o princípio ativo e microrganismo alvo, demonstrando a importância de validações para escolha de produtos a serem utilizados em programas de higiene.

Ayhan et al. (1999), testaram duas concentrações de hipoclorito de sódio (0,5% e 5,25%), sobre microrganismos comumente encontrados em sistemas de canais radiculares, entre eles *E. faecalis*, e verificaram que a maior concentração resultou em diminuição significativa no crescimento da bactéria. Negreiros et al. (2014) identificou isolados de *E. faecalis* tolerantes as concentrações de 2,5% e 8,5% de hipoclorito de sódio (sem presença de matéria-orgânica). Nesta pesquisa observou-se que o hipoclorito em presença de água conseguiu diminuir o crescimento microbiano porém em solução com BHI foi totalmente ineficiente, assim como o dióxido de cloro.

Fraise (2002) explica que os possíveis mecanismos de tolerância a biocidas em cocos gram-positivos incluem bombas de efluxo, alteração do sítio alvo e mudanças na estrutura da parede celular. Para Cânoa (2008) uma das desvantagens da utilização do cloro é que este biocida é rapidamente inativado pela matéria orgânica, tendo escassa atividade quando aplicado a superfícies de carcaças e de equipamentos sujos por resíduos durante o processo. Segundo Sander et al. (2002), bactérias apresentam tolerância após uma exposição prolongada aos desinfetantes, e bactérias do mesmo gênero e espécie podem apresentar diferenças na sensibilidade frente ao mesmo desinfetante.

Quando aplicamos os sanitizantes sobre biofilme de *Enterococcus*, também obtivemos que nenhum dos agentes químicos foram eficientes na morte e remoção do biofilme (Figura 2). Para esta avaliação, foi mensurada a capacidade da célula em reduzir o composto XTT, mostrando assim a viabilidade celular (Figura 3). Embora os isolados sejam todos do gênero *Enterococcus*, cada isolado apresentou comportamento distintos em relação à resistência aos sanitizantes químicos, demonstrando assim um resultado preocupante, já que o comportamento dos microrganismos são metabolicamente distintos.

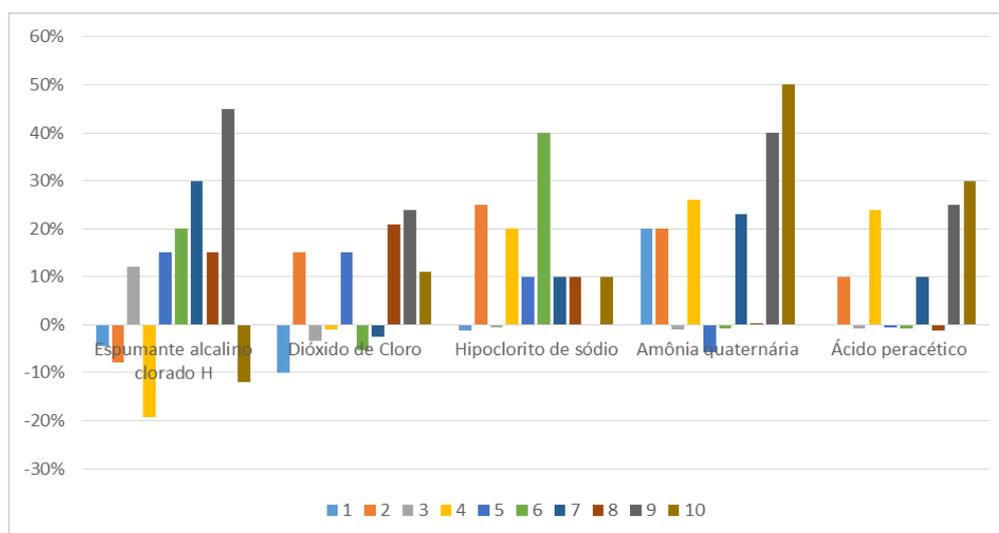


Figura 2 – Resultados do percentual de células viáveis no biofilme após ação dos sanitizantes; dados mensurados com o composto XTT. Os números 1 a 10 indica os isolados de *Enterococcus* utilizados neste estudo.

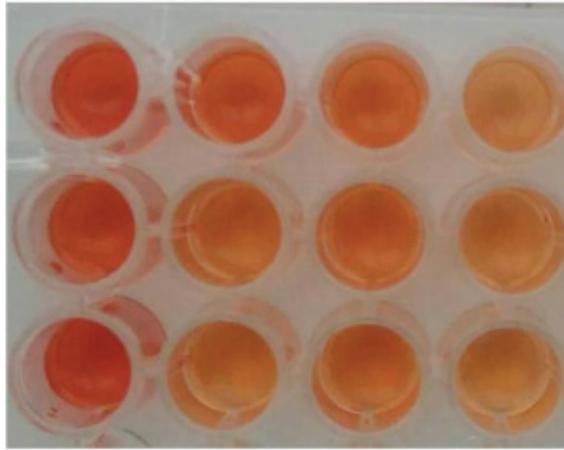


Figura 3 – Ensaio de redução do Sal XTT nos biofilmes formados por *Enterococcus* sp após contato com sanitizantes químicos. A cor laranja-avermelhada indica redução do sal pela cadeia respiratória bacteriana, indicando viabilidade celular.

Ziech (2015) ao avaliar a tolerância do biofilme maduro formado no polipropileno (PP) e poliuretano (PU) à sanitizantes comumente utilizados na indústria (detergente alcalino clorado, ácido peracético e ambos combinados), obteve os melhores resultados de inativação de *Salmonella* sp. Contudo, nossos resultados mostram que por se tratar de bactéria Gram positiva talvez a resistência do biofilme seja maior.

Jessen e Lammert (2003) afirmam que a remoção de micro-organismos de superfícies de contato torna-se muito mais difícil após a formação do biofilme, e geralmente este procedimento só será possível pela adoção de várias ações combinadas, como a utilização de mais de um sanitizante.

Hood e Zottola (1997) afirmam que comparar resultados de estudos de eficiência de sanitizantes é complexo devido à variação nas condições para a aderência e desenvolvimento do biofilme, podendo interferir na ação do agente sanitizante. Variáveis como as características microtopográficas das superfícies, rugosidade, presença de fissuras ou fendas podem diminuir a eficiência do processo de higienização e interferir diretamente nos resultados obtidos (ANDRADE; PINTO; LIMA, 2008). Estes resultados indicam a necessidade de vastas avaliações e validações pelas indústrias a fim de estabelecer o melhor sanitizante e/ou a combinação deles e as concentrações para possibilitar a eliminação/redução dos biofilmes.

Embora o ácido peracético seja considerado um dos mais efetivos no combate a biofilmes bacterianos e sua alta eficiência tem sido atribuída a grande capacidade de oxidação do material celular (ROSSONI; GAYLARDE, 2000), esses dados não corroboraram com nossos resultados, uma vez que 50% de nossos isolados não foram eliminados com esse agente químicos.

Moura et al. (2011) atestaram que o uso de quaternária amônia a 0,26% acrescido de leite em pó reconstituído foi eficiente no controle de *Enterococcus* após 15 minutos de contato. Entretanto, Sander et al. (2002) ao confrontar 17 amostras de *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia*

e *Pasteurella*, provenientes de avicultura, verificaram que a amônia quaternária foi incapaz de promover inativação das amostras. Neste estudo, também observamos quaternária amônia não apresentou eficiência no controle de *Enterococcus*.

A ação dos sanitizantes é afetada pelo tipo e concentração de microrganismos contaminantes, características da superfície, tempo e temperatura de 25 contato, concentração de uso, tipos de resíduos presentes na superfície, pH, propriedades físico-químicas da água e, por substâncias inativadoras (ANDRADE et al., 2008).

Ainda são escassos os trabalhos abordando a temática da resistência bacteriana a sanitizantes de uso industrial. Nosso estudo foi pioneiro na análise da sensibilidade de *Enterococcus* sp, provenientes da linha de produção de embutidos, frente a 5 sanitizantes de uso industrial.

## 4 | CONCLUSÃO

Os procedimentos de higienização e sanitização nas indústrias contemplam diversas etapas, dentre elas, recolha dos maiores resíduos, remoção de matéria orgânica e/ou resíduo com auxílio de água quente, dispersão de espuma através de equipamentos e ação física, enxague (com água quente) e sanitização. Estas etapas visam aumentar a eficiência dos processos e ação dos produtos químicos. Os resultados desta pesquisa devem ser utilizados como alerta para ressaltar a importância de ações preventivas nas indústrias, como validações dos processos de higienização, rotatividade entre os produtos químicos para evitar a resistência dos microrganismos a determinados compostos e avaliação do local (composição dos resíduos, tempo disponível para higienização e sanitização, composição dos equipamentos e/ou estruturas) para maximizar a eficiência dos procedimentos aplicados.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, N. J.; PINTO, C. L. O.; LIMA, J. C. Adesão e formação de biofilmes microbianos. In: ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de Alimentos – Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. 2 ed. São Paulo (SP): Varela, 2008, 410 p.

ARIAS, C. A., MURRAY, B. E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, p. 266-278, 2012.

AYHAN, H.; SULTAN, N.; CIRAK, M.; RUHI, M. Z.; BODUR, H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **International Endodontic Journal**, v. 32, p. 99-102, 1999.

BELTRAME, C. A.; KUBIAK, G. B.; LERIN, L. A.; ROTTAVA, I.; MOSSI, A. J.; OLIVEIRA, R.; CANSIAN, R. L.; TREICHEL, H.; TONIAZZO, G. Influence of different sanitizers on food contaminant bacteria: effect of exposure temperature, contact time, and product concentration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 228-233, abr.-jun. 2012.

BERESFORD, M. R.; ANDREW, P. W.; SHAMA, G. *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food-processing environments. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 1000-1005, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº326, de 30 de julho de 1997. Regulamentos Técnicos sobre Inspeção Sanitária, boas Práticas de Produção/Prestação de Serviços e Padrão de Identidade e qualidade na Área de alimentos. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 01 ago. 1997.

CÂNOA, Jorge Miguel Horta. **Requisitos para a implantação do HACCP em matadouros de aves**. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.

CASTRO, Marcília Santos Rosado. **Enterococcus spp. e Pseudomonas spp. isolados de ambiente de processamento de produtos lácteos: identificação, formação de biofilmes multi-espécies e controle por agentes sanitizantes**. 2012. 225 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2012.

CHEN, J.; ROSSMAN, M. L.; PAWAR, D. M. Attachment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* to the surface of beef and a culture medium. **Food Science and Technology**, Oxford, v. 40, p. 249-254, 2007.

CLONTZ, Lucia. A contaminação microbiana pode causar uma redução de fluxo e corrosão das linhas do sistema de água. **Revista Controle de Contaminação**, n. 109, 2008.

DONK, D. P. V.; GAALMAN, G. Food safety and hygiene systematic layout planning of food processes. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 82 (A11), p. 1485–1493, Novembro/2004.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

EUZÉBY, J. P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. 2015. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/-allnames.html>>. Acesso em: 15 out. 2015.

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

FOUQUIÉ-MORENO, M. R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 1-24, 2006.

FRAISE, A. P. Susceptibility of antibiotic-resistant cocci to biocides. **Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement**, v. 31, p. 158S-162S, 2002.

FRANZ, C. M. A. P.; STILES, M. E.; SCHLEIFER, K. H.; HOLZAPFEL, W. H., Enterococci in foods – a conundrum for food safety. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 105-122, 2003.

FUSTER-VALLS, N.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.; MARÍN-DE-MATEO, M.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. **Food Control**, v. 19, n. 3, p. 308-314, 2008.

GELINAS, P.; GOULET, J. Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. **Journal of Applied Microbiology**, v. 54, p. 243-247, 1983.

GELSOMINO, R.; VANCANNEYT, M.; CONDON, S.; SWINGS, L.; COGAN, T. M. Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar-type cheesemaking factory. **International Journal of Food Microbiology**, v. 71, p. 177-188, 2001.

GIRAFFA, Giorgio. Functionality of enterococci in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 215-222, 2003.

- GRAM, L.; BAGGE-RAVN, D.; NG, Y. Y.; GYMOESE, P.; VOGEL, B. F. Influence of food soiling matrix on cleaning and disinfection efficiency on surface attached *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, p. 1165-1171, 2007.
- HERRERA, J. J. R.; CABO, M. L.; GONZÁLEZ, A.; PAZOS, I.; PASTORIZA, L. Adhesion and detachment kinetics of several strains of *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* under three different experimental conditions. **Food Microbiology**, v. 24, n. 6, p. 585-591, 2007.
- HOOD, S. K.; ZOTTOLA, E. A. Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, p. 145-153, 1997.
- IVERSEN, A.; KÜHN, I.; FRANKLIN, A.; MÖLBY, R. High prevalence of vancomycin resistant enterococci in Swedish sewage. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 2838–2842, 2002.
- JESSEN, B.; LAMMERT, L. Biofilm and Disinfection in Meat Processing Plants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 51, n. 4, p. 265-269, 2003.
- JOHNSTON, L. M.; JAYKUS, L. A.; MOLL, D.; ANCISO, J.; MORA, B.; MOE, C. L. A Field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, p. 83-95, 2006.
- MANSFELD, Florian. The interaction of bacteria and metal surfaces. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 27, p. 7670-7680, 2007.
- MARQUES, E. B.; SUZART, S. Occurrence of virulence-associated genes in clinical *Enterococcus faecalis* strains isolated in Londrina Brazil. **Journal Medical Microbiology**, v. 53, p. 1069–1073, 2004.
- McDONNELL, G.; RUSSEL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1, p. 147–179, 1999.
- MOURA, A. C. de; SANTOS, A. M. dos; PINTO, F. G. da S.; PEREIRA, K. K. Perfil de resistência microbiana aos principais sanitizantes utilizados em frigoríficos da cidade de Cascavel no Paraná. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo-SP, v. 25, n. 202/203, p. 170-175, nov./dez. 2011.
- NEGREIROS, M. O.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A. P. G. Estudo in vitro da ação de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio sobre *Enterococcus faecalis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 8, n. 2, p. 41-50, 2014.
- PEREIRA, M. A.; ALVES, A. A.; AZEREDO, J.; MOTA, M.; OLIVEIRA, R. Influence of physico-chemical properties of porous microcarriers on the adhesion of an anaerobic consortium. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 181-186, 2000.
- ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 61, p. 81-85, 2000.
- RUSSELL, John B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 363-370, 1992.
- SANDER, J. E.; HOFACRE, C. L.; CHENG, I-H.; WYATT, R. D. Investigation of resistance of bacteria from commercial poultry sources to commercial disinfectants. **Avian Disiases**, Washington, v. 46, p. 997-100, 2002.
- STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, Karlsruhe, v. 36, n. 1, p. 1-29, Abr/1997.

USEPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2009 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisores. Washington D. C: USEPA, **Office of Water**, 2009 (EPA 822-R-09-011).

VIANA, Eliseth de Souza. **Moléculas sinalizadoras de *Quorum Sensing* em biofilmes formados por bactérias psicrotólicas isoladas de leite**. 2006. 176 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-359-0

