

**INSTITUTO  
FEDERAL**  
Rio de Janeiro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

**Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*  
Mestrado Profissional em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos**

**Ricardo Campos Monteiro**

**Avaliação da tolerância de  
*Acinetobacter* spp.  
isolados de alimentos a  
condições gastrointestinais  
simuladas**

Rio de Janeiro  
2024

Ricardo Campos Monteiro

**Avaliação da tolerância de *Acinetobacter* spp. isolados de alimentos a condições gastrointestinais simuladas**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof. Dra. Janaína dos Santos Nascimento

**Rio de Janeiro**

**2024**

Ficha catalográfica elaborada por  
Anderson Morais Chalaça  
CRB7 5661

M775a Monteiro, Ricardo Campos.

Avaliação da tolerância de *Acinetobacter* spp. isolados de alimentos a condições gastrointestinais simuladas. / Ricardo Campos Monteiro. – Rio de Janeiro, RJ, 2024.

52 f.: il.; 21 cm.

Orientador: Prof. Dr.<sup>a</sup> Janaina dos Santos Nascimento.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal do Rio de Janeiro, Programa Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2024.

1. Bactérias patogênicas - *Acinetobacter*. 2. Testes de sensibilidade bacteriana. 3. Sistema gastrointestinal - Microbiologia. I. Nascimento, Janaina dos Santos. II. Título.

CDU 616.3

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e amigos, cujo apoio inabalável e amor infinito me sustentaram durante toda esta jornada. Ao meu companheiro Edson Azeredo, minha comadre e amiga Paula Moita, filha e amiga Luziara Novaes, a minha afilhada e amiga Nilza Moita, cujos sacrifícios e encorajamento foram a luz que guiou meu caminho. A vocês, meu eterno agradecimento. À minha orientadora/professora, Janaína Nascimento, pela sua orientação, paciência e sabedoria, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Aos meus amigos, pela camaradagem, compreensão e motivação mútua ao longo destes anos. Este trabalho é dedicado a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal. Obrigado!

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a espiritualidade, que me acompanhou neste percurso, fazendo que compreendesse cada estágio e auxiliando em socorro, quando o coração estava apertado e decidido a desistir, nesse momento vovó Jurema, Tia Maria (Pretas velhas de Umbanda) e Mulambo das Sete encruzilhadas (Pombogira) e tantas outras entidades de luz, vinham ao meu encontro a fim de relembrar os objetivos e o exemplo de manter-me em constante movimento, para que outros jovens possam trilhar caminhos acadêmicos ou inimagináveis. Carrego a fala da entidade chefe da casa espiritual CEJA (Centro Espírita Justiça e Amor) e que foi citada pelo cantor Chorão: “(...) **O impossível é só questão de opinião (...)**”. Sim, ela cita aquilo que nos toca e nos faz seguir. Agradeço a Pombogira das Almas, que sempre está incansavelmente ao meu lado, protegendo e guiando meus caminhos para o bem.

A minha grande orientadora Dra. Janaína dos Santos Nascimento, que conduziu de forma maestrina essa pesquisa e com olhar além do educacional e científico, mas também afetivo, o meu muito obrigado. Quero agradecer ao meu parceiro de laboratório Michel Santos Gomes do Nascimento, por toda a parceria e organização no processo experimental.

Ao meu companheiro e parceiro de vida Edson Azeredo, pela paciência, carinho, atenção e por ser o exemplo de professor e pesquisador. A minha amiga e parceira Paula Moita, por estar ao lado nos momentos difíceis e sempre por sempre ver o lado bom da vida. Aos meus afilhados, compadres e comadres que de alguma forma tornaram o percurso mais leve. Meu carinho e agradecimento a Luziara Novaes, que é exemplo de perseverança e luta, e por acreditar no meu caminho e no de tantas pessoas.

Desejo muito Axé e que todos os orixás possam abençoar os caminhos de cada um que teve participação na construção desta dissertação.

## RESUMO

Nos últimos anos, isolados do gênero *Acinetobacter* têm sido registrados em diferentes tipos de habitats, em alimentos, água, solo e ambientes hospitalares ao redor do mundo. Este gênero abrange cerca de 76 espécies registradas e o mesmo tornou-se um alerta vermelho para os pesquisadores, devido à sua multirresistência a antibióticos e mecanismos de sobrevivência, tornando-o assim um problema de saúde pública. Estudos mostram que mecanismos de sobrevivência de *Acinetobacter* como a produção de enzimas lipolíticas, biofilme e fenótipo MDR, são responsáveis pela modificação sensorial de alimentos e veiculação de novas cepas resistentes a sanitizantes, desinfetantes e antibióticos. Contudo, não há estudos que avaliam a tolerância de *Acinetobacter* ao sistema gastrointestinal (SGI). Neste trabalho, 16 isolados de *Acinetobacter* spp. foram caracterizados quanto a produção de enzima lipolíticas, biofilme e expressão do fenótipo MDR. Todos os isolados foram produtores de enzimas lipolíticas, dois (12,5%) foram produtores de biofilme e todos apresentaram fenótipo MDR. Para a avaliação da tolerância ao SGI, foi realizada a avaliação do comportamento dos isolados de *Acinetobacter* spp. a partir da exposição ao suco gástrico e fluido intestinal simulados, simulando o processo de digestão. Após essa exposição, os isolados de *Acinetobacter* spp. foram capazes de permanecer viáveis, apresentando uma taxa de sobrevivência variando de 51,9 a 95,6% em relação ao inóculo inicial. Este é o primeiro trabalho a avaliar a tolerância desse gênero ao SGI, onde conclui-se que os mesmos apresentam comportamento semelhante a outros patógenos alimentares tradicionais, mesmo sob exposição ao pH 2,0, a ações enzimáticas e a sais biliares. Em resumo, *Acinetobacter* spp. isolados de alimentos apresentam alta tolerância às condições gastrointestinais simuladas e a capacidade de sobrevivência ao sistema gastrointestinal é de suma importância para a colonização intestinal e desencadear outras patologias intestinais. Novos experimentos são necessários para investigar a interação desses e de outros isolados com diferentes tipos de alimentos e sua capacidade de competir com a microbiota intestinal podem corroborar com os resultados obtidos neste estudo.

## ABSTRACT

In recent years, isolates of the *Acinetobacter* genus have been recorded in different types of habitats, such as food, water, soil, and hospital environments around the world. This genus encompasses around 76 registered species and has become a red alert for researchers due to its multi-resistance to antibiotics and survival mechanisms, thus making it a public health problem. Studies show that *Acinetobacter* survival mechanisms, such as the production of lipolytic enzymes, biofilm, and MDR phenotype, are responsible for the sensorial alteration of foods and the dissemination of new strains resistant to sanitizers, disinfectants, and antibiotics. However, no studies evaluate the tolerance of *Acinetobacter* to the gastrointestinal system (GIS). In this work, 16 isolates of *Acinetobacter* spp. were characterized by the production of lipolytic enzymes, biofilm, and expression of the MDR phenotype. All isolates were lipolytic enzyme producers, two (12.5%) were biofilm producers, and all had an MDR phenotype. To assess tolerance to SGI, the behavior of *Acinetobacter* spp. isolates was evaluated by exposure to simulated gastric juice and intestinal fluid, simulating the digestion process. After this exposure, isolates of *Acinetobacter* spp. were able to remain viable, presenting a survival rate ranging from 51.9 to 95.6% about the initial inoculum. This is the first work to evaluate the tolerance of this genus to GIS, which concludes that they present similar behavior to other traditional food pathogens, even under exposure to pH 2.0, enzymatic actions, and bile salts. In summary, *Acinetobacter* spp. Food isolates show high tolerance to simulated gastrointestinal conditions, and the survivability of the gastrointestinal system is of paramount importance for intestinal colonization and triggering other intestinal pathologies. New experiments are needed to investigate the interaction of these and other isolates with different types of food, and their ability to compete with the intestinal microbiota can corroborate the results obtained in this study.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AR - *Antibiotic resistance* (Resistência a antibióticos)
- BI - Barreira Intestinal
- CCK-PZ- Colecistocinina-pancreozina
- CDC - *Center for Disease Control and Prevention* (Centro para Controle e Prevenção de Doenças)
- DTHA - Doença(s) de transmissão hídrica e alimentar
- EM - Esclerose múltipla
- FIS - Fluido intestinal simulado
- HCl - Ácido clorídrico
- LPSN - *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature* (Lista de Nomes de Procarióticos com Base em Nomenclatura)
- pH - potencial hidrogeniônico
- MALDI-TOF - *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight* (ionização/dessorção a laser assistida por matriz com tempo de vôo)
- MDR - *multidrug resistant* (multirresistência a drogas)
- NGF- *nerve growth factor* (fator de crescimento nervoso)
- OXA-23 - Gene associado à resistência a antibióticos carbapenêmicos
- RPM- Rotações por minuto
- SGI - Sistema gastrointestinal
- SHU - Síndrome hemolítica urêmica
- SNE - Sistema nervoso entérico
- SGS - Suco gástrico simulado
- TNF- $\alpha$  - *tumor necrosis factor alfa* (fator de necrose tumoral alfa)
- UFC - Unidades formadoras de colônias
- VBNC - viable but non-culturable (viável mas não cultivável)

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Isolados de *Acinetobacter* spp. utilizados neste estudo.

**Tabela 2.** Preparo da solução estoque do fluido de digestão.

**Tabela 3.** Componentes a serem adicionados ao SGS para composição do FIS.

**Tabela 4.** Análise qualitativa de formação biofilme por isolados de *Acinetobacter* spp..

**Tabela 5.** Porcentagem de redução da contagem inicial dos isolados de *Acinetobacter* spp. isolados de alimentos após a exposição às condições gastrointestinais simuladas.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Microscopia eletrônica de varredura (A) e microscopia óptica (B) de *Acinetobacter* spp.

**Figura 2.** Etapas da formação e desenvolvimento do biofilme bacteriano

**Figura 3.** Regulação e secreção da zimogênio-pepsina no estômago.

**Figura 4.** Mecanismo de liberação da bile no duodeno.

**Figura 5.** Delineamento experimental para avaliação do potencial de colonização do sistema gastrointestinal.

**Figura 6.** Placa de Petri com ágar vermelho Congo ilustrando a produção de biofilme.

**Figura 7.** Atividade lipolítica em ágar Spirit blue acrescido de substrato para lipases.

**Figura 8.** Isolado F1R13/6 apresentando coloração vermelha no meio CHROMagar *Acinetobacter* MDR<sup>®</sup>, caracterizando o fenótipo MDR.

**Figura 9.** Tolerância dos isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de leite de cabra cru às condições gastrointestinais simuladas.

**Figura 10.** Tolerância dos isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de saladas prontas para consumo às condições gastrointestinais simuladas.

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO</b> .....	<b>1</b>
2.1. <i>Acinetobacter</i> .....	1
2.2. <i>Acinetobacter</i> spp. associados a alimentos.....	3
2.3. Doenças intestinais causadas por <i>Acinetobacter</i> .....	5
2.4. Barreiras do corpo contra patógenos alimentares .....	7
2.5. Implicações da sobrevivência de <i>Acinetobacter</i> spp. ao SGI .....	11
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>14</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
4.1 Objetivo geral.....	15
4.2 Objetivos específicos .....	15
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
5.1 Isolados de <i>Acinetobacter</i> spp. ....	16
5.2 Caracterização dos isolados .....	17
5.2.1 Detecção qualitativa da produção de biofilme.....	17
5.2.2 Detecção da produção de enzimas lipolíticas .....	17
5.2.3 Verificação do fenótipo de multirresistência a drogas .....	17
5.3 Avaliação do potencial de colonização do sistema gastrointestinal.....	18
5.3.1 Preparo da solução estoque de fluido de digestão.....	18
5.3.2 Avaliação da tolerância ao suco gástrico simulado (SGS) .....	19
5.3.3 Avaliação da tolerância ao fluido intestinal simulado (FIS).....	20
5.4. Análises estatísticas.....	20
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
6.1 Caracterização dos isolados .....	21
6.1.1 Produção qualitativa de biofilme .....	21
6.1.2 Avaliação da atividade lipolítica .....	24
6.1.3 Análise do fenótipo de multirresistência a antibióticos (MDR).....	26
6.2. Avaliação da tolerância às condições gastrointestinais simuladas .....	27
6.3 Inferência do potencial de colonização do sistema gastrointestinal por ingestão de alimentos contaminados por <i>Acinetobacter</i> spp. ....	31
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>33</b>
<b>8 PRODUÇÃO TÉCNICA E CIENTÍFICA ATÉ O MOMENTO</b> .....	<b>34</b>
<b>9 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>

# 1. INTRODUÇÃO

*Acinetobacter* é um patógeno que está comumente associado a infecções hospitalares. Sua patogenicidade e resistência a antibióticos foi observada pela comunidade científica, o que o levou a ser inserido no Relatório de Ameaças de Resistência a Antibióticos de 2019, do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC - *Center for Disease Control and Prevention*) (CDC, 2019).

Alguns estudos têm descrito que muitos patógenos oportunistas têm sido associados a alimentos de origem animal e vegetal, incluindo o gênero *Acinetobacter* (CARVALHEIRA, SILVA & TEIXEIRA, 2021; MALTA, RAMOS & NASCIMENTO, 2020). O consumo de alimentos crus, como frutas e legumes, contendo isolados desses patógenos, aumenta os riscos de veiculação para outros ambientes, promovendo resistência a antibióticos, sepses em unidades hospitalares e aumento na taxa de mortalidade (DAHIRU & ENABULELE, 2015; AL-ATROUNI *et al.*, 2016; CARVALHEIRA *et al.*, 2017; FAROUK *et al.*, 2020; ABABNEH *et al.*, 2022).

Sabe-se que muitos patógenos chegam ao corpo humano por vias alimentares, em busca de estabelecer uma relação ecológica negativa (parasitismo). O sistema gastrointestinal é o local com maior probabilidade de contaminação por patógenos alimentares e, por isso, possui uma gama de estratégias a fim de eliminar essas ameaças ou diminuir sua virulência (SALVO ROMERO *et al.*, 2015).

A alteração de pH em todo o sistema gastrointestinal, a presença de enzimas e secreções biliares, gástricas, pancreáticas e entéricas, agem degradando de forma inespecífica a parede celular do antígeno invasor, além da presença de bactérias que compõem a microbiota intestinal, que estabelecem uma relação ecológica negativa por competição, interferindo no tamanho da população invasora. Essas e outras estratégias podem servir como componente protetivo contra patógenos alimentares, incluindo *Acinetobacter* spp. (BERTHOULD-PLUTA *et al.*, 2015; SALVO ROMERO *et al.*, 2015).

Diante do exposto, há a necessidade da investigação da possibilidade de que os alimentos sejam, portanto, reais vetores de transmissão de *Acinetobacter* spp. para o sistema gastrointestinal humano (CARVALHEIRA *et al.*, 2017; AMORIM & NASCIMENTO, 2017; MALTA *et al.*, 2020). Torna-se, portanto, de suma importância o entendimento sobre como estes micro-organismos se comportam quando são ingeridos a partir de um alimento contaminado e se podem ser caracterizados como potenciais causadores de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA).

## 2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1. *Acinetobacter*

O gênero *Acinetobacter* é caracterizado por bactérias Gram-negativas, com formato de cocabacilos (**Figura 1**), não fermentadores, oxidase-negativas, não formadoras de esporos e, geralmente, produtoras de biofilmes. São classificados como patógenos oportunistas, porém, em alguns casos, apresentam alta patogenicidade. Apresentam resistência a estresses ambientais, como alterações de temperaturas e exposição por longos períodos a superfícies secas (MALTA *et al.*, 2020).



**Figura 1:** Microscopia eletrônica de varredura (A) e microscopia óptica (B) de *Acinetobacter* spp. Fonte: PHIL (Public Health Images Library, CDC).

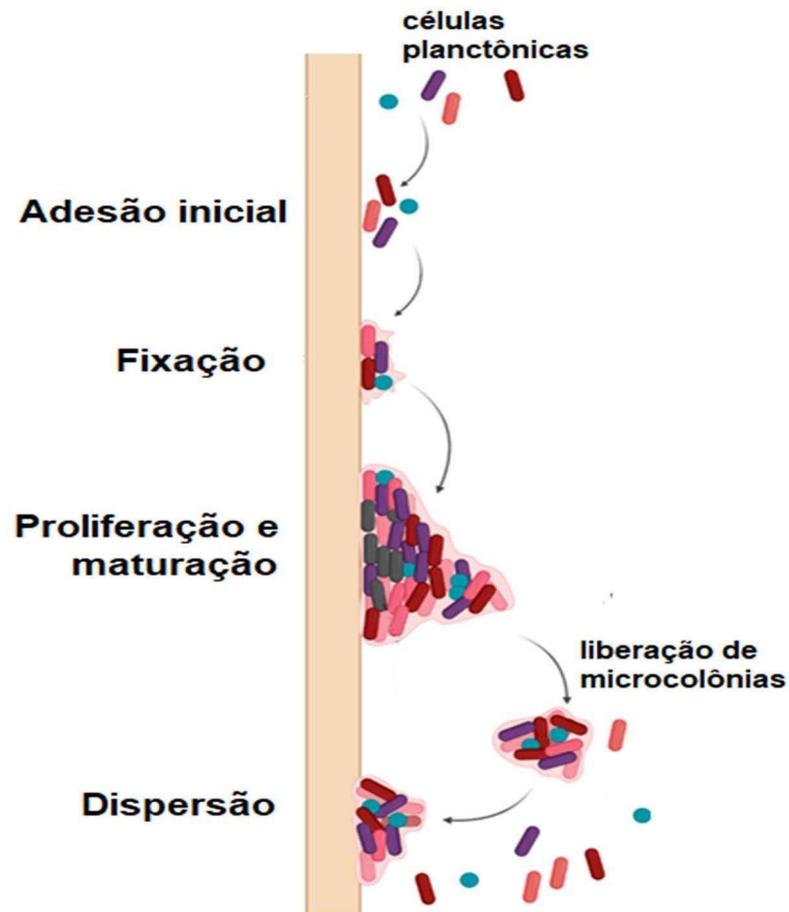
Este gênero apresenta 76 espécies identificadas até o momento, sendo as mais comuns: *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter schindleri* e *Acinetobacter ursingii* (MALTA *et al.*, 2020; LPSN, 2023). Muitos relatos de infecções hospitalares são oriundos da contaminação por este gênero. Um dos principais fatores que torna *Acinetobacter* um patógeno de extrema relevância é sua capacidade de tornar-se multirresistente a antibióticos.

A espécie *A. baumannii* foi, inclusive, inserida no Relatório de Ameaças de Resistência a Antibióticos de 2019, do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2019), devido às suas estratégias para desvencilhar-se das barreiras e defesas imunológicas do organismo humano e pelo aumento na taxa de infecção hospitalar e de mortalidade.

*Acinetobacter* pode ser encontrado no meio ambiente (solo, água, vegetais, alimentos e etc.) e em espaços hospitalares (VANEGA *et al.*, 2014). No âmbito hospitalar, é responsável por infecções nosocomiais (infecções adquiridas em unidades hospitalares), como meningite, sepse (infecção generalizada dos órgãos pelo patógeno), infecções de feridas cirúrgicas, infecções respiratórias como pneumonia e bronquite, originárias de contaminação por ventilação mecânica, e infecção do trato urinário, por cateteres, sondas ou pela equipe de saúde (CATÃO, *et al.*, 2017). A infecção intestinal por *Acinetobacter* é menos comum quando comparada às infecções nosocomiais, mas pode ocorrer concomitantemente, apresentando sintomas como dores abdominais, náuseas, vômitos, diarreia aquosa ou sanguinolenta. (GROTIUZ, *et al.*, 2006; POLANCO & MANZI *et al.*, 2008)

A atenção voltada para gênero *Acinetobacter* deve-se, principalmente, aos seus mecanismos de resistência a antibióticos, que são considerados multifacetados, e incluem: a produção de  $\beta$ -lactamases, a aquisição de plasmídeos, modificações de alvos celulares dos antibióticos, perda de porinas e presença ou superexpressão de bombas de efluxo (VANEGAS *et al.*, 2014; SALGADO-CAMARGO *et al.*, 2020). Tudo isso pode ser, ainda, agravado pela produção de biofilme.

Biofilmes são comunidades bacterianas que se aderem a superfícies bióticas e abióticas, proporcionando maior resistência a estresses ambientais. As células são envoltas por uma matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Os biofilmes podem liberar pequenas colônias, que são responsáveis por disseminar ainda mais as bactérias. As etapas de desenvolvimento do biofilme são: formação de microcolônias, maturação, formação da arquitetura do biofilme e desprendimento do biofilme, como observado na **Figura 2** (EZE *et al.*, 2018, COLQUHOUN & RATHER, 2020; SHRESTHA *et al.*, 2022).



**Figura 2.** Etapas da formação e desenvolvimento do biofilme bacteriano (Adaptada de Shrestha *et al.*, 2021).

Sabe-se, entretanto, que *Acinetobacter* é um patógeno muito versátil e sua importância não está restrita apenas ao ambiente hospitalar. Atualmente, sua presença tem sido associada a diversos alimentos, como descrito a seguir.

## **2.2 *Acinetobacter* spp. associados a alimentos**

Os alimentos apresentam grande potencial como veículos de circulação de patógenos. Na atualidade, diversos estudos apontam a presença do *Acinetobacter* spp. tanto em alimentos de origem vegetal quanto de origem animal.

Um deles, baseado na epidemiologia de *Acinetobacter baumannii* de origem não-humana, realizado no Líbano por Rafei e colaboradores (2015), identificou isolados de *A. baumannii* em vetores de fontes alternativas, tais como água, leite de vaca cru, queijo feito com leite cru, carne de vaca e animais. Os resultados do estudo revelam que *A. baumannii* foi identificado em 6,9% das amostras de água, 2,7% das amostras de leite cru, 8,0% das amostras de carne de vaca, 14,3% das amostras de queijo e 7,7% das amostras de animais coletadas entre fevereiro de 2012 e outubro de 2013 (RAFEI, *et al.*, 2015).

Na identificação de *Acinetobacter* em carnes, o estudo realizado por Lupo e colaboradores (2014), relata a presença de *A. baumannii* em carnes cruas comercializadas na Suíça. Cerca de 62 isolados foram encontrados em um total de 248 amostras coletadas entre novembro de 2012 e maio de 2013. Os dados do estudo também apontam que as carnes de aves foram as mais contaminadas por *A. baumannii*, totalizando 48% da contaminação das amostras coletadas no mesmo período.

Bitar e colaboradores (2019) identificaram isolados de *Acinetobacter* spp. em fígado de peru, que apresentaram genes *mcr*, que conferem resistência à colistina. No mesmo ano, Mari-Almirall e seus colaboradores (2019) realizaram um estudo visando identificar *Acinetobacter* em carne de mercado em Lima, Peru. As amostras de carne foram coletadas em seis mercados tradicionais de Lima entre os meses de julho e agosto de 2018, totalizando 138 amostras. Ao realizar as análises, foram identificadas 9 cepas de *A. pittii*, 1 cepa de *A. baumannii* e 1 cepa de *A. dijkschoorniae* nas amostras de carne coletadas. Outros autores, como Elbehiry e colaboradores (2021) e Askari e colaboradores (2019), também citam a presença de *A. baumannii* em amostras de carnes cruas de ovelhas, vacas, frangos, camelos e cabras.

Em um estudo direcionado à ocorrência de *A. baumannii* em peixes, coletados no Mar Mediterrâneo próximo à Costa da cidade de Bejaia (Argélia), verificou pela primeira vez, duas cepas de *A. baumannii* produtoras de OXI-23, gene associado à resistência a antibióticos carbapenêmicos (BRAHMI *et al.*, 2016).

Ramos & Nascimento (2019) identificaram a presença de *Acinetobacter* spp. em leite cru de cabra, considerado uma fonte alternativa para a substituição do leite de vaca, devido à maior digestibilidade e hipoalergenicidade. As amostras foram adquiridas no estado do Rio de Janeiro e, dentre as cepas isoladas, foram identificadas as espécies *A. guillouiae*, *A. ursingii* e *A. bereziniae*.

Recentemente, em um estudo com 100 amostras de leite cru coletadas na cidade de Gena, Egito, foram isoladas 13 cepas de *Acinetobacter*, sendo 4 delas da espécie de *A. baumannii* (MOHAMED *et al.*, 2022; GÜNERI, 2023).

Quanto à identificação de *Acinetobacter* em alimentos de origem vegetal, Karumathil

e colaboradores (2016) detectaram a presença de *A. baumannii* em alimentos frescos, como batatas e alface coletados em feiras livres de Connecticut (KARUMATHILI *et al.*, 2016; COSTA- RIBEIRO *et al.*, 2024).

Por sua vez, Carvalheira e colaboradores (2017) avaliaram a presença de cepas de *Acinetobacter* em alface e frutas (maçãs, peras, bananas e morangos) comercializadas em Portugal. O resultado das análises apontou que de 45 amostras de alface analisadas, 39 apresentaram isolados de *Acinetobacter*. Quanto às frutas, 15% das maçãs, 12,3% das pêras e bananas, 6,8% dos morangos apresentaram contaminação por *Acinetobacter*.

Mais um estudo que associa a presença de *Acinetobacter* em vegetais foi desenvolvido em solo brasileiro, na cidade de Mineiros (Goiás), na qual foi avaliada a qualidade microbiológica de alface. Foi detectada a presença de isolados do complexo *A. baumannii*, entre outros patógenos, como *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (CHO *et al.*, 2024; SANTOS ROCHA *et al.*, 2021).

No recente trabalho de Ababneh e colaboradores (2022), foi verificado que produtos frescos podem ser um veículo potencial para a transmissão de *A. baumannii*. Dentre as 234 amostras coletadas, foram identificados 10 isolados de *A. baumannii* em hortaliças e 7 em frutas.

Em estudos direcionados à identificação de *Acinetobacter* em água, Rocha (2013) analisou a presença de membros desse gênero em estação de tratamento de água e em torneiras, onde foi verificada a presença de cepas de *A. johnsonii*, *A. lwoffii*, *A. parvus* e *A. tjernbergiae* nas duas fontes e cepas *A. pittii* e *A. beijerinckii* encontrado somente nas torneiras. Vaz Moreira (2017) em seu estudo analítico de Proteobacterias e bactérias Gram-negativas em água potável, identificou DNA pertencente a *Acinetobacter* na água oriunda de torneiras (ROCHA *et al.*, 2013 & VAZ- MOREIRA *et al.*, 2017).

Malta e colaboradores (2020) sugerem que a contaminação de alimentos por *Acinetobacter* ocorra a partir da negligência na higiene e no processamento ou armazenamento dos alimentos, levando essas bactérias aos pacientes hospitalizados ou ao cidadão da comunidade. Essa afirmação é corroborada por Mohamed e seus colaboradores (2022), quando mencionam que a contaminação também pode ser derivada de água residual de máquinas de ordenha, dutos coletores, limpeza inadequada, refrigeradores e outros fatores que corroboram para a proliferação do patógeno.

### **2.3. Doenças intestinais causadas por *Acinetobacter***

As doenças intestinais se caracterizam pela presença de enteropatógenos ou pela presença de toxinas, causando sintomas como diarréia aguda e/ou sanguinolenta, náuseas, vômitos e quadros de gastroenterite aguda e gastrite. Essas doenças são geralmente oriundas

da ingestão de água ou alimentos contaminados e são conhecidas como DTHA (doenças de transmissão hídrica e alimentar). Alguns relatos da literatura abaixo descritos clínica sugerem, mas não confirmam, que estirpes de *Acinetobacter* poderiam estar associadas a DTHA e a outras doenças gastrointestinais mais graves.

Grotiuz e colaboradores, em 2006, identificaram pela primeira vez, a presença de *A. haemolyticus* produtora de toxina Shiga 2, em fezes de crianças de três meses de idade. A toxina Shiga 2 é responsável pelo quadro clínico de diarreia sanguinolenta, mas não é comum ser produzida por cepas de *Acinetobacter*. Grotiuz sugere que, neste caso, a produção da toxina é devida a aquisição do gene *stx2* (GROTIUZ *et al.*, 2006). Entretanto, Silva & Lipinski (2014) já relacionaram uma estirpe de *A. haemolyticus* produtora de toxina Shiga 2 com quadro clínico de síndrome hemolítica urêmica (SHU) em uma criança de nove meses.

Polanco e Manzi citam a incidência de diarreia aguda em crianças na faixa etária de 0 a 5 anos de idade, no Hospital Maternidade Del Este, na Venezuela, onde de 150 crianças com quadro clínico característico, 4 estavam colonizadas com *A. baumannii* e *A. calcoaceticus*. (POLANCO & MANZI, 2008).

Regalado e colaboradores (2009) analisaram um caso clínico nos Estados Unidos, de um homem de 64 anos hospitalizado, que apresentava sintomas de náuseas, vômitos, diarreia aquosa e febre. O diagnóstico médico sugeriu gastroenterite oriunda de bacteremia por *A. Iwoffii*. Em 2019 na China, Ye e colaboradores também relataram algo semelhante, onde associaram *A. baumannii* aos sintomas característicos de gastroenterite com posterior indução para um quadro de choque séptico.

*Acinetobacter* também pode estar associado a outros tipos de doenças originadas no intestino. A disfunção da barreira Intestinal (BI), pode ocorrer ao contato com xenobióticos, agentes infecciosos ou radiação ionizantes, que promovem desordem de forma direta à barreira intestinal, facilitando assim, a enterotoxicidade. Esse caráter enterotóxico também pode ser proporcionado por ações sistêmicas e não somente por substâncias químicas de origem externa, como por exemplo, substâncias absorvidas por via oral (SCHÄFER *et al.*, 2022).

Para Schäfer e colaboradores (2022), o intestino delgado apresenta uma grande atividade de proliferação celular, o que o torna sensível, uma vez em contato com drogas citostáticas promovendo o desnudamento do epitélio, facilitando assim, a absorção sistêmica de substâncias tóxicas ou entrada de patógenos. Outras causas que promovem maior permeabilidade intestinal são: estase gastrointestinal, espasmo da musculatura lisa dos órgãos do SGI e hipóxia aguda.

A disbiose intestinal é caracterizada pela redução ou alteração da microbiota, que é multifatorial, pois pode ter origem pelo aumento da idade, pela alteração na dieta, que inclui

uma maior ingestão de alimentos altamente industrializados, de medicamento antibacteriano e outras condições adversas (NEUHANNIG *et al.*, 2019 & CHOI *et al.*, 2020). O quadro de disbiose intestinal pode desencadear outras alterações comprometendo a homeostasia do organismo. Dessas alterações podemos elencar: distúrbios metabólicos, autoimunes, neurológicos e inflamatórios (WEISS & HENNET, 2017).

A microbiota intestinal é de suma importância na interferência e sobrevivência de patógenos externos no intestino, uma vez alterada, pode desencadear processos imunológicos e liberação de fatores celulares, como CD25+ e FOXP3. Recentemente, algumas pesquisas têm se dedicado ao estudo da esclerose múltipla (EM), uma doença neurológica crônica, cuja natureza autoimune é sugerida por pesquisas atuais. Fatores genéticos e ambientais podem contribuir para o desenvolvimento dos sintomas característicos e evolução da doença. Entre os diversos fatores ambientais relacionados à EM, destaca-se a disbiose intestinal, que também pode ser promovida pelo gênero *Acinetobacter*. O microbioma intestinal de indivíduos com EM não difere significativamente do de indivíduos saudáveis. No entanto, observa-se alterações em grupos taxonômicos, com uma maior presença de grupos taxonômicos pró-inflamatórios, incluindo o gênero *Acinetobacter*, em indivíduos com EM, quando comparados a indivíduos saudáveis, que apresentam maior concentração de grupos taxonômicos anti-inflamatórios (CASTRO *et al.*, 2020).

Para Cekanaviciute e colaboradores (2017), *Acinetobacter calcoaceticus* foi capaz de reduzir células T regulatórias que expressam CD25+ e FoxP3 (fator de transcrição, com a função de suprimir genes relacionados a processos inflamatórios), sugerindo o aumento da sintomatologia da esclerose múltipla.

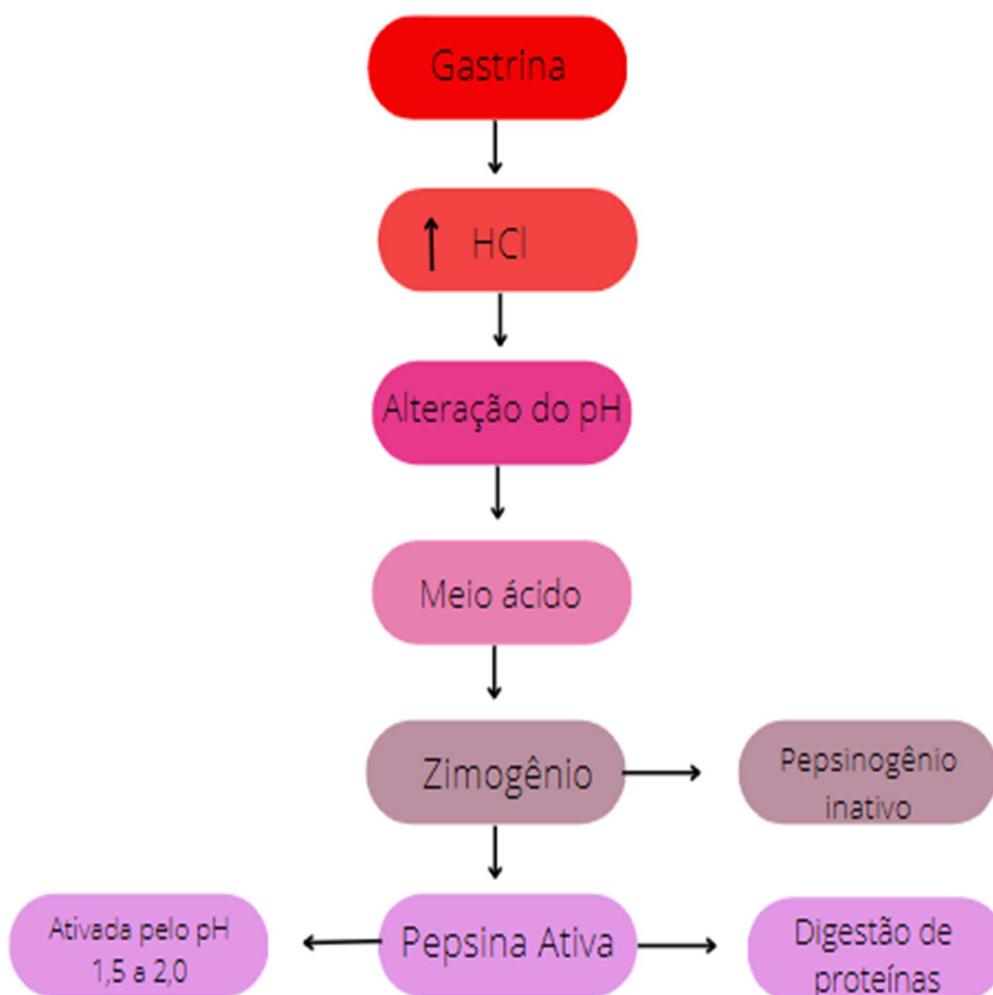
## **2.4 Barreiras do corpo contra patógenos alimentares**

O corpo humano apresenta várias barreiras como tentativa de impedir a chegada e a instalação de patógenos no organismo. Podemos citar, como exemplos, a alteração de pH no percurso que o alimento faz no sistema digestório, a ação enzimática da saliva, da bile e dos sucos gástricos, pancreáticos e entéricos do sistema gastrointestinal (SGI). A compreensão da anatomia desse sistema se faz necessária, para avaliar o comportamento bacteriano no SGI.

A saliva é um fluido composto por várias enzimas, produzida nas glândulas salivares e apresenta importantes funções para o corpo humano, na qual podemos destacar: auxiliar na digestão e ação bactericida. A ação bactericida é proveniente da enzima lisozima, capaz de degradar a parede celular do patógeno gram-positivos e do ácido láctico que inibe o crescimento de algumas bactérias (PEREIRA *et al.*, 2019). No entanto, a ação da saliva sobre

*Acinetobacter* não é eficaz, como já observado com muitas bactérias Gram-negativas (JESUS *et al.*, 2014).

O estômago, além de sua função digestiva (digestão de amido e proteínas, emulsificação de enzimas), também desempenha um papel importante na defesa contra patógenos. A gastrina é um hormônio produzido e secretado pelas células G, localizadas na porção inferior do estômago, do jejuno-duodeno e pela glândula pituitária, entre outras, e tem como principal função regularizar o pH do estômago, estimulando assim a produção de ácido clorídrico. Esta acidificação do estômago não só ajuda a neutralizar patógenos oriundos de alimentos e água, mas também ativa a enzima pepsina, que é responsável pela digestão de proteínas. A pepsina é liberada na forma de zimogênio ou pepsinogênio, na forma inativa, e é ativada pela mudança de pH 1,5 a 2,0 estimulado pelo ácido clorídrico liberado pelas células parentais, como esquematizado na **Figura 3** (MARAMBIO *et al.*, 2012; SMITH *et al.*, 2003; HEDA *et al.*, 2019).



**Figura 3.** Regulação e secreção da zimogênio-pepsina no estômago.

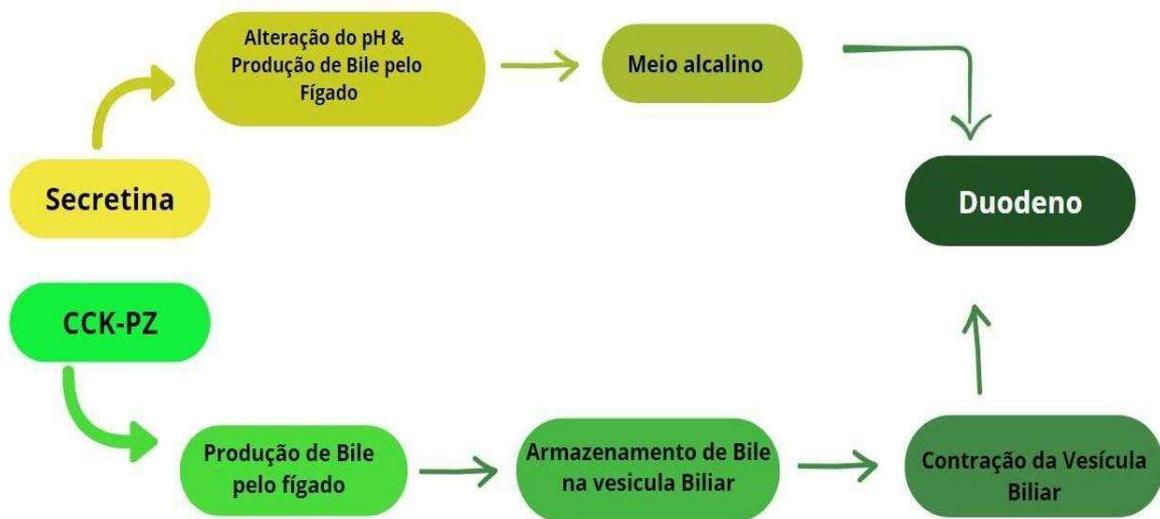
O processo de digestão de alimentos ocorre de forma mecânica e química: grande parte do processo é químico com a participação de enzimas, como a pepsina e a tripsina e dentre outras os sais biliares formam os sucos gástrico, pancreático e entérico, apresentam como função a transformação do macronutriente em micronutrientes para que ao final do processo da digestão possam ser absorvidos pelas células intestinais (HEDA *et al.*, 2019).

A tripsina é uma das enzimas presente no suco pancreático, sendo considerada a principal liberada pelo pâncreas, por apresentar uma ação proteolítica e bactericida. Sua ação eletrostática, ocasiona a perfuração da membrana plasmática do patógeno. Uma redução ou hidrólise dessa enzima, citado por Zhang e colaboradores em 2022, pode levar a um processo inflamatório e alteração na mucosa intestinal (MUKHERJEE *et al.*, 2009 & ZHANG *et al.*, 2022).

Ao ser produzida, a tripsina apresenta-se na forma pró-Reg3 $\alpha$ / $\gamma$  inativa. Ao sofrer hidrólise e imputada a um ambiente alcalino no duodeno, é convertida em tripsina ativa. Zhang e colaboradores (2022), sugerem que a colaboração da  $\alpha$ -defensina que é ativada juntamente com a hidrólise da tripsina, desempenha um papel bactericida (CHAIRATANA *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2022).

Ao chegar no intestino, a primeira barreira a ser vencida pelos micro-organismos, se encontra no lúmen intestinal, no qual ocorrem alterações de pH e presença de enzimas, que têm por finalidade degradar antígenos e micro-organismos. Compostos de enzimas, contendo proteases, lipases, amilases, nucleases, colaboram para a extinção do invasor, através da degradação da parede celular. A segunda barreira é a produção de muco, pelas células caliciformes, que apresenta peptídeos anti-bactericida e imunoglobulina A, que se aderem à mucosa, impedindo a adesão do micro-organismo. As células Paneth secretam substâncias contendo: fosfolípidios, peptídeos ativos e mucinas com cargas negativas, que estimulam a lise da membrana plasmática do patógeno (SALVO ROMERO *et al.*, 2015; ALEMAN *et al.*, 2023).

Os sais biliares, por sua vez, são produzidos pelo fígado e armazenados em uma vesícula denominada vesícula biliar. A bile desempenha o papel de emulsão de lipídios que facilitará a digestão desse produto por outras enzimas lipolíticas presente no suco pancreático, e é liberada diretamente no duodeno mediante a um pH alcalino. O estímulo de produção da bile, aumento, contração e esvaziamento da vesícula biliar no duodeno é exercido pelas substâncias secretina e CCK-PZ (colecistocinina-pancreozimina), como ilustrado na **Figura 4** (MARIEB, WILHELM & MALAT, 2014).



**Figura 4.** Mecanismo de liberação da bile no duodeno.

Para Salvo Romero e colaboradores, a microbiota intestinal é responsável pelo controle microbiano e reparo do tecido epitelial. A microbiota natural do corpo, reage de forma competitiva, por nutriente e habitat, impedindo a proliferação do agente invasor, ao liberar substâncias anti-microbiana e substâncias capazes de modificar o pH. A regeneração do epitélio ocorre, devido a presença de células- troncos pluripotentes, que se diferenciam em enterócitos, regenerando assim o epitélio intestinal (SALVO ROMERO *et al.*, 2015).

A diversidade celular garante a proteção do organismo, na qual pode-se citar: as células caliciformes, por produzir muco; células Paneth, na produção de defensina; células enterocromafins, pela produção de secreção de neuropeptídeos e hormônios; e células apresentadoras de antígenos. Os enterócitos, além da função digestiva, metabólica e plástica, também apresentam função imune, pois expressam receptores que participam da resposta imune inata, apresentando antígenos, como os linfócitos e recrutando outros leucócitos através da produção de citocinas e quimiocinas (SALVO ROMERO *et. al.*, 2015; TAKIISHI *et al.*, 2017).

O sistema nervoso entérico (SNE) é composto por neurônios, células gliais, nervos do plexo mioentérico e plexo submucoso, que em contato com células neurormonais, modula a resposta inflamatória, colaborando com a resposta do sistema imunológico ao patógeno. O SNE colabora tanto para a reações imunológicas, quanto para as funções metabólicas e digestivas, desta forma garante a homeostase intestinal do homem (SALVO ROMERO *et al.*, 2015).

As junções no epitélio intestinal funcionam como barreira física e ativação do sistema imunológico. São descritos três tipos de junções: junções apertadas (*tight junctions*), junções

de ancoragem e junções de comunicação. As primeiras, junções apertadas, estão relacionadas à manutenção do endotélio e translocação de íons. Geralmente, estão associadas a essas junções, células específicas como: macrófagos, neurônios, astrócitos, células dendríticas e leucócitos. As segundas, junções de ancoragem, têm por função se aderir a matriz extracelular (junção aderente) ou a células vizinhas (desmossomos), diminuindo o espaço entre as células ou porta de entrada de patógenos localizados no lúmen e/ou adjacências. As terceiras, junções comunicantes, têm por função a comunicação e troca de íons, entre células vizinhas, garantindo a manutenção do endotélio, devido a liberação de conexina, o que proporciona o crescimento e a diferenciação celular de células epiteliais (SALVO ROMERO *et. al.*, 2015; ALEMAN *et al.*, 2023).

Já o processo de permeabilidade intestinal é uma barreira importante para manter a homeostasia intestinal. A presença das junções e substâncias produzidas por células do epitélio e células adjacentes, auxiliam no controle no funcionamento dessas junções (NESI *et al.*, 2020; DE JESUS, 2022; ALEMAN *et al.*, 2023).

Para Camilleri e colaboradores, além das proteínas que participam ativamente na permeabilidade intestinal, o gradiente de concentração na barreira, o tempo de contato, a área de superfície do intestino e o potencial de degradação bacteriana e de moléculas digestivas, são fatores que influenciam na capacidade de permeabilidade intestinal (CAMILLERI *et.al.*, 2012; ALEMAN *et al.*, 2023).

Fatores neuroimunes também são responsáveis pela alteração da permeabilidade intestinal. A liberação de substâncias produzidas por mastócitos, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), triptase, intercelucinas e fatores de crescimento nervoso (NGF), alteram a concentração de proteínas claudinas, modificando as junções apertadas, promovendo assim uma maior permeabilidade. Essa forma de evento, pode ocorrer a partir do estímulos de nervos eferentes vagais, que liberam acetilcolina, promovendo uma vasoativação de células epiteliais ou pela expressão de proteínas de junções ou por células do sistema imune, como os mastócitos (CAMIRELLI *et. al.*, 2012).

## **2.5. Implicações da sobrevivência de *Acinetobacter* spp. ao SGI**

O naturalista Charles Darwin instituiu a Teoria de Seleção Natural, onde os indivíduos, estimulados pelas condições ambientais, podem desenvolver alterações significativas a fim de manter-se vivos (DARWIN, 1859 *apud* SILVA & SANTOS, 2015). As bactérias são exemplos fáceis para observar o processo de seleção natural, ao serem imputadas a um ambiente estressante como, por exemplo, alterações bruscas de temperatura, alteração de pH, presença de drogas antimicrobianas e baixa disponibilidade de água. Ao

serem expostas a essas condições, genes reguladores associados à sobrevivência são ativados. Essa ativação promove diversas estratégias de sobrevivência, que podemos listar: resistência ou tolerância significativa a grandes concentrações de determinados antibióticos, latência da atividade celular, alteração no mecanismo de bombas de efluxo, entre outros (TRASTOY *et al.*, 2018; OKAIYETO *et al.*, 2024).

Ao analisarmos o envoltório celular bacteriano, ele apresenta algumas estruturas que podem tornar o processo de fagocitose mais demorado ou inviável. Estruturas como as fímbrias e adesinas, flagelo e muco, dificultam a fagocitose pelo fato de, se conectarem a receptores de glicoproteínas das células hospedeiras e promovendo uma maior aderência as superfícies e aos organismos. De forma similar, o “curli”, estrutura de caráter funcional próximo as fímbrias, onde se ancoram na matriz extracelular tecidual do hospedeiro, aumentando as possibilidades de associação com outras células patogênicas e formação de biofilme (BHUNIA *et al.*, 2018).

Ao contrário dos patógenos alimentares clássicos, *Acinetobacter* raramente está descrito como associado a doenças diarreicas. No entanto, a principal razão para esta disparidade reside no fato de que essas bactérias geralmente causam infecções muito mais graves e, mesmo quando são detectadas no trato gastrointestinal, sua presença é geralmente ofuscada pela co-ocorrência de agentes infecciosos mais comuns, que são então tratados coletivamente como patógenos oportunistas (AMORIM & NASCIMENTO, 2017).

Esse fato constitui um problema ainda mais grave, quando se trata de determinados grupos de risco. Com o avanço da Medicina e pesquisas científicas, o número de indivíduos imunocomprometidos vêm aumentando em todo o mundo. Esse comprometimento do sistema imunológico resulta, principalmente, do vírus da imunodeficiência humana, de câncer, de infecções recorrentes e predisposição genética, mas também pode ser causada por tratamento antibiótico prolongado ou por alguma terapia imunossupressora administrada a pacientes que receberam, por exemplo, transplantes de órgãos (BERG *et al.*, 2014; AMORIM & NASCIMENTO, 2017). Assim como em idosos e crianças pequenas, como os casos já descritos no item 1.3, esses indivíduos imunocomprometidos poderiam estar mais susceptíveis a infecções gastrointestinais causadas por *Acinetobacter*.

Da mesma forma que outros patógenos alimentares, os membros do gênero *Acinetobacter* também apresentam características que os tornariam bons competidores na microbiota de diversos produtos alimentícios, garantindo sua sobrevivência nesses alimentos e o seu sucesso como patógeno, visto que eles possuem a capacidade de sobreviver à dessecação, formar biofilmes, produzir bacteriocinas, aderir, colonizar e infectar células epiteliais humanas (CERQUEIRA & PELEG, 2011; AMORIM & NASCIMENTO, 2017; CONCEIÇÃO *et al.*, 2018; NASSER & ABDULRAZAQ, 2022; SHARMA *et al.*, 2022; SILVA,

LEAL & XAVIER,

2022). Deve ser ressaltado, ainda, o potencial de resistência a diferentes classes de antibióticos, tornando o tratamento de qualquer infecção ainda mais complicado, sem contar com a capacidade de transferência de genes de resistência a outras bactérias presentes em alimentos e na própria microbiota intestinal, podendo, em casos de infecções, se disseminar para outros órgãos (PAGANO *et al.*, 2016; TRASTOY *et al.*, 2018; MALTA, RAMOS & NASCIMENTO, 2020; ABABNEH *et al.*, 2023; JEON *et al.*, 2023; GÜNERI, 2023).

### 3 JUSTIFICATIVA

O corpo humano apresenta diversas estratégias com funcionalidades a fim de combater patógenos alimentares, mantendo assim a homeostase do indivíduo, como por exemplo, enzimas degradadoras de amido, gorduras e ácidos nucleicos, alteração de pH, fatores imunológicos e histo-químico, controle de permeabilidade celular e intestinal, competição entre a microbiota e o patógeno. De forma similar, aos patógenos alimentares apresentam mecanismos de resistência para não sucubirem ao estresse ambiental.

O gênero *Acinetobacter* tem sido isolado em diversos tipos de alimentos, água de reservatórios e torneiras, ambientes de assistência em saúde ao redor do mundo, o que o torna relevante aos assuntos de saúde pública. Sua veiculação descontrolada aumenta os riscos de infecções nos ambientes de assistência à saúde, surtos de infecções gastrointestinais, aumentando risco de contaminação de idosos, crianças e indivíduos imunocomprometidos.

Dessa forma, o atual estudo tem por objetivo caracterizar isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de alimentos e avaliar sua tolerância a condições gastrointestinais simuladas, sendo possível, então, inferir de forma pioneira, a capacidade de colonização do sistema gastrointestinal humano, evidenciando seu potencial papel como patógeno oportunista associado a alimentos.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Caracterizar fenotipicamente e investigar a tolerância de isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de alimentos tanto de origem animal quanto vegetal a condições gastrointestinais *in vitro*, evidenciando, assim, seu potencial de colonização do sistema gastrointestinal e seu papel como patógeno associado a alimentos.

### 4.2 Objetivos específicos

□ Caracterizar os isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de alimentos utilizados através da:

- Avaliação da atividade produtora de biofilme;
- Detecção da produção de enzimas lipolíticas;
- Análise do fenótipo de multirresistência a antibióticos (MDR);

□ Analisar a tolerância dos isolados de *Acinetobacter* spp. ao suco gástrico simulado e ao fluido intestinal simulado;

□ Inferir o potencial de colonização do sistema gastrointestinal ao ingerir alimentos contaminados por *Acinetobacter* spp.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Isolados de *Acinetobacter* spp.

Os isolados de *Acinetobacter* spp. utilizados neste trabalho são oriundos de leite de cabra cru, de saladas prontas para consumo e de hortaliças orgânicas e foram identificados por espectrometria de massa por MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry - Espectrometria de Massa por Ionização e Desorção a Laser Assistida por Matriz de Tempo de Voo) em estudos anteriores realizados no Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) e na Universidade Federal Fluminense (UFF), como apresentado na **Tabela 1**. Os isolados foram ativados a partir de estoques congelados a -20°C por meio de inoculação em placas contendo *Tryptic Soy Agar* (ágar Casoy, Himedia, São Paulo, Brasil). As placas foram incubadas a 37°C por 18 a 24h.

**Tabela 1:** Isolados de *Acinetobacter* spp. utilizados neste estudo

Identificação	Isolados	Origem
<i>Acinetobacter baumannii</i>	F3R18/7	S
	F3R13/1	S
	F1R13/6	S
	F2R21	S
	F2R13/7	S
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	A31	H
<i>Acinetobacter gernerii</i>	F5R14/3	S
<i>Acinetobacter guillauiae</i>	1708	L
	1715	L
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>	F4R15/7	S
	F4R15/6	S
	F3R12/7	S
	F1R13/7	S
	F4R15/3	S
<i>Acinetobacter ursingii</i>	2008	L
	2017	L

S, amostras provenientes de saladas prontas para o consumo (Beltrão, 2019); L, amostras provenientes de leite de cabra cru (Ramos & Nascimento, 2019); H, hortaliças orgânicas (Morgado, 2022).

## **5.2 Caracterização dos isolados**

De modo a caracterizar os isolados obtidos de alimentos utilizados neste estudo, foi realizada a detecção qualitativa da produção de biofilme, a avaliação da produção de lipases e a verificação da expressão do fenótipo MDR.

### **5.2.1 Detecção qualitativa da produção de biofilme**

Os isolados foram inoculados sobre a superfície de placas contendo ágar Vermelho Congo (ágar nutriente acrescido de 0,8 g/l de vermelho congo e 36 g/l de sacarose), de caráter cromogênico, conforme descrito por Freeman e colaboradores (1989). As placas foram incubadas no período de 24 horas sob temperatura de 37°C.

O vermelho congo se liga aos exopolissacarídeos, cuja produção é favorecida pela presença de sacarose. Assim sendo, os isolados produtores de biofilme apresentam-se como colônias de coloração preta, enquanto que os não produtores se apresentam despigmentados ou avermelhados. *Salmonella enterica* ATCC14028 foi utilizado como controle positivo da produção de biofilme.

### **5.2.2 Detecção da produção de enzimas lipolíticas**

Para a avaliação da produção de enzimas lipolíticas, os isolados foram crescidos em ágar Spirit Blue (Himedia, São Paulo, Brasil) acrescido de 3% do substrato para lipases (composto por uma solução contendo 10 ml de azeite de oliva, 40 ml de água destilada estéril e 0,1 ml de Tween 80) e agitado até obtenção de uma distribuição uniforme. As placas foram incubadas por até 72h a 37°C. A atividade lipolítica foi determinada pela formação de halo transparente ao redor do crescimento do isolado.

### **5.2.3 Verificação do fenótipo de multirresistência a drogas**

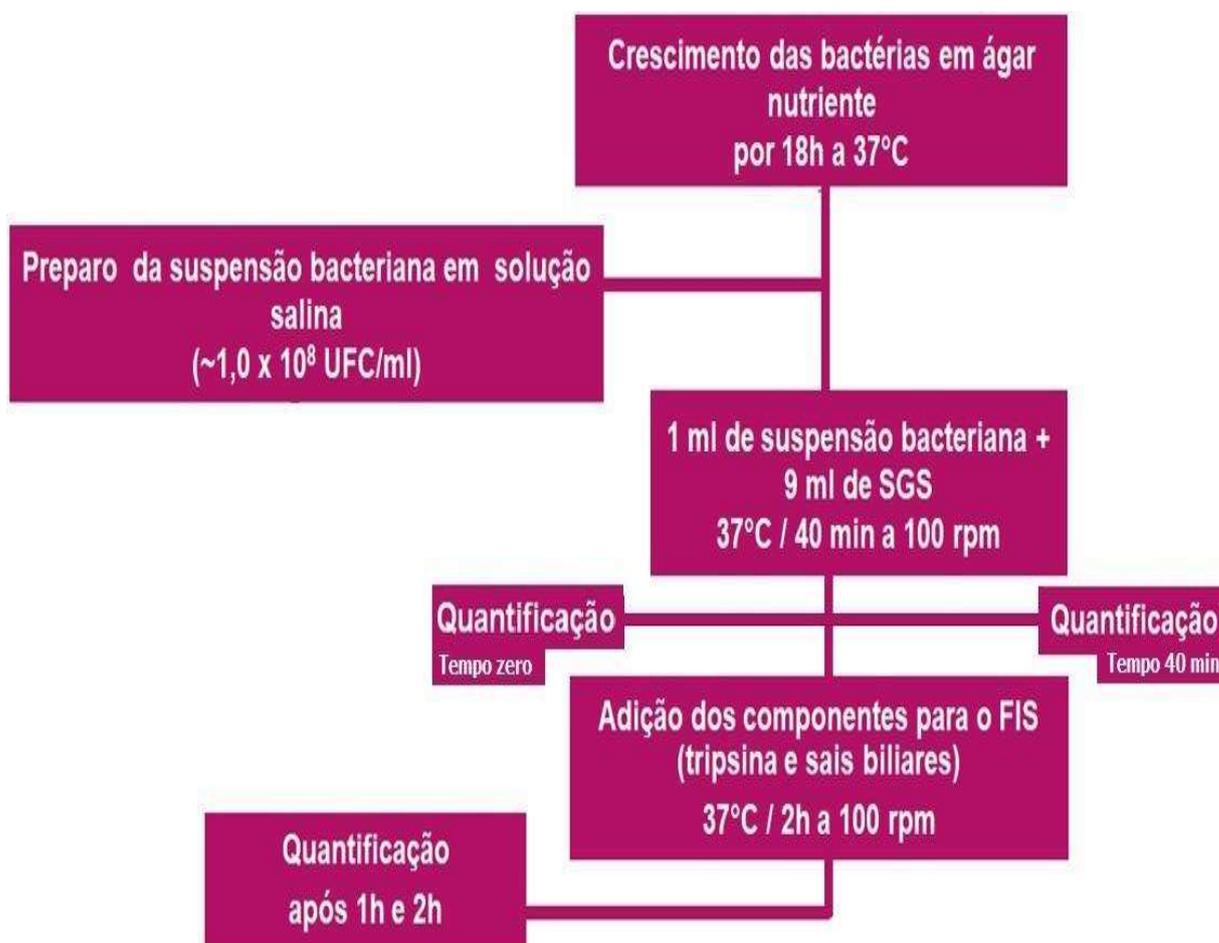
A caracterização dos isolados quanto à resistência a antibióticos, nos estudos anteriores, foi realizada por meio de antibiograma, que devido a escolha dos antibióticos a serem testados, podem não revelar um fenótipo de multirresistência (MDR). A fim de se determinar se os isolados estudados são MDR, utilizou-se o meio de cultura CHROMagar *Acinetobacter* MDR®, meio cromogênico seletivo e diferencial, destinado para a detecção qualitativa de isolados de *Acinetobacter* spp. MDR.

Os isolados foram estriados na superfície do meio e as placas incubadas por 18-24h a 37°C. Colônias de *Acinetobacter* spp. MDR apresentam a coloração vermelha. As demais

bactérias (incluindo isolados de *Acinetobacter* spp. não-MDR) ou são inibidas ou quando crescem, apresentam colônias azuis-claras.

### 5.3 Avaliação do potencial de colonização do sistema gastrointestinal

Para a avaliação do potencial de colonização, foi seguido o delineamento experimental apresentado na **Figura 5**.



**Figura 5:** Delineamento experimental para avaliação do potencial de colonização do sistema gastrointestinal. SGS, suco gástrico simulado; FIS, fluido intestinal simulado.

#### 5.3.1 Preparo da solução estoque de fluido de digestão

Para o preparo das soluções estoque de suco gástrico simulado (SGS) e de fluido intestinal simulado (FIS), utilizou-se o método proposto por Minekus e colaboradores (2014) e Mulet-Cabero e colaboradores (2020). As devidas concentrações dos reagentes que

compõem a solução estoque estão descritas na **Tabela 2**.

**Tabela 2:** Preparo da solução estoque do fluido de digestão

Componente	Concentração de cada solução estoque	Volume das soluções estoques a ser utilizado (concentração final no SGS)
KCl	0,5 M	6,9 ml (6,9 mM)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 M	0,9 ml (0,9 mM)
NaHCO <sub>3</sub>	1,0 M	12,5 ml (25 mM)
NaCl	2,0 M	11,8 ml (47,2 mM)
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	0,15 M	0,4 ml (0,12 mM)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,5 M	0,5 ml (0,5 mM)
HCl	6M	1,3 ml (15,6 mM)
CaCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	0,3 M	0,005 ml (0,15 mM)
H <sub>2</sub> O destilada q. s. p.	-	400 ml

\* Conforme método consenso internacional de digestão *in vitro* padronizado adequado para alimentos (Minekus *et al.*, 2014); q.s.p., quantidade suficiente para.

Todos os volumes da **Tabela 2** foram calculados para 400 mL de uma solução estoque de fluido de digestão concentrada 1,25X. Para o desenvolvimento do experimento, a solução estoque foi diluída até a concentração final de 1X com a adição dos componentes descritos nos itens 5.4.2 ou 5.4.3, para o SGS e para o FIS, respectivamente).

Todos os componentes da Tabela 2 foram dissolvidos em água deionizada e autoclavados. A solução estoque foi mantida distribuída em tubos falcon e mantida congelada a – 20°C até o momento do uso.

### 5.3.2 Avaliação da tolerância ao suco gástrico simulado (SGS)

No momento do uso, para compor o SGS, adicionou-se a pepsina (Sigma- Aldrich, P7012), que foi filtrada em membrana estéril (0,22µm) e adicionada até a concentração final de 2.000 U/ml.

A tolerância ao SGS foi avaliada conforme descrito por Pettersen e colaboradores (2019), expondo-se 1 mL de solução salina contendo aproximadamente 10<sup>8</sup>UFC/ml de *Acinetobacter* spp. a 9 mL do SGS previamente aquecido a 37°C. A exposição foi realizada por 40 minutos, a 37 °C e com agitação de 100 rpm para simular o movimento peristáltico.

Alíquotas da suspensão foram coletadas após os 40 minutos de exposição para que a quantificação fosse feita. Diluições seriadas de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-8</sup> e inoculações por semeadura em

superfície em duplicatas em Ágar Casoy foram realizadas e as placas incubadas a 37°C por 24h. Após o tempo de incubação, realizou-se a contagem de colônias para a determinação da tolerância ao suco gástrico (MAO et al., 2006).

### 5.3.3 Avaliação da tolerância ao fluido intestinal simulado (FIS)

Mimetizando o que acontece no organismo humano, os isolados foram submetidos à ação do FIS, conforme descrito por Pettersen e colaboradores (2019), com pequenas alterações. Após o tempo de exposição ao SGS, o pH do meio foi ajustado para 7,0 com a utilização de NaOH 1,0 M e, subsequentemente, o fluido intestinal foi simulado a partir da adição dos componentes descritos na **Tabela 3**. A suspensão bacteriana proveniente do SGS foi mantida no FIS por 120 minutos a 37°C, com agitação de 100 rpm.

**Tabela 3:** Componentes que foram adicionados ao SGS para composição do FIS

Componente	Concentração final no FIS
Tripsina de pâncreas suíno (Sigma-Aldrich T4799) 1.000 U/mg	100 U/ml
Oxgall (sais biliares, Sigma-Aldrich B8631	0.3% (p/v), adaptado por Madureira e colaboradores (2005)

Para a quantificação das células viáveis coletou-se 1 mL da solução resultante após 1h de exposição das bactérias ao FIS, seguindo a mesma metodologia utilizada para quantificar as células viáveis após a exposição ao SGS (MAO et al., 2006). Cada experimento foi realizado em triplicata.

A determinação do potencial de colonização do sistema gastrointestinal foi relacionado com a sobrevivência dos isolados após os tratamentos com SGS e FIS.

### 5.4. Análises estatísticas

As diferenças nos valores de contagem entre os isolados obtidos de saladas e leite cru foram comparadas por meio de teste t não pareado no software GraphPad. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Caracterização dos isolados

#### 6.1.1 Produção qualitativa de biofilme

A formação do biofilme é um processo complexo e multifatorial que envolve a interação de diversos elementos, como polissacarídeos, DNA extracelular, proteínas, substância surfactante, flagelos, pili, entre outros (ABRANTES & NOGUEIRA, 2022). Essa combinação de fatores desempenha um papel crucial na capacidade de aderência a diferentes superfícies e na resistência antimicrobiana, dificultando a erradicação do biofilme e favorecendo o crescimento e desenvolvimento da comunidade bacteriana.

Sabe-se que a fixação do biofilme nas superfícies constitui um grande problema tanto para área clínica quanto para a área de alimentos visto que está associada à proliferação de infecções em hospitais e doenças gastrointestinais, assim como à degradação do produto alimentar final (ALVES *et al.*, 2016, DAMACENO & FARIAS, 2016).

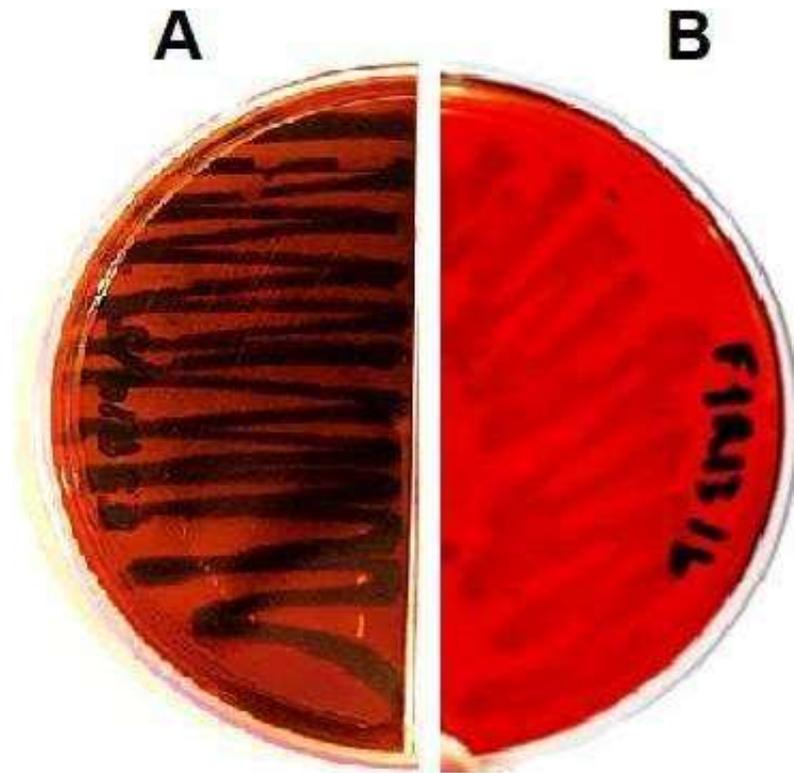
Neste estudo, dos 16 isolados analisados (**Tabela 4**), apenas dois (12,5%), F2R21 (*A. baumannii*) e F5R14/3 (*A. gernerii*), ambos oriundos de saladas prontas para consumo, foram capazes de expressar o fenótipo de produção de biofilme no ágar vermelho congo, enquanto os demais isolados, oriundos de leite de cabra cru e hortaliça orgânica, foram considerados não produtores.

Vale ressaltar que os quatro isolados oriundos de leite de cabra cru foram testados quanto à produção de biofilme em um estudo anterior (Ramos & Nascimento, 2019) e os resultados foram apenas confirmados neste trabalho. Um isolado produtor e um não-produtor de biofilme estão representados na **Figura 6**.

Dois estudos recentes também avaliaram a formação de biofilme produzido por *Acinetobacter* de diferentes amostras de alimentos de origem animal e vegetal, e encontraram taxas de produção de biofilme superiores às encontradas em nosso estudo.

**Tabela 4:** Análise qualitativa da formação de biofilme, atividade lipolítica e expressão do fenótipo MDR pelos isolados de *Acinetobacter* spp..

Identificação	Isolados	Produção de Biofilme	Atividade Lipolítica	Expressão do fenótipo MDR
<i>Acinetobacter baumannii</i>	F1R13/6	-	+	+
	F2R13/7	-	+	+
	F2R21	+	+	+
	F3R13/1	-	+	+
	F3R18/7	-	+	+
<i>Acinetobacter gernerii</i>	F5R14/3	+	+	+
<i>Acinetobacter nosocomialis</i>	F1R13/7	-	+	+
	F3R12/7	-	+	+
	F4R15/3	-	+	+
	F4R15/6	-	+	+
	F4R15/7	-	+	+
<i>Acinetobacter guillauiae</i>	1708	-	+	+
	1715	-	+	+
<i>Acinetobacter ursingii</i>	2008	-	+	+
	2017	-	+	+
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	A31	-	+	+



**Figura 6:** Placa de Petri com ágar Vermelho Congo ilustrando a produção de biofilme. **A.** Isolado (F5R14/3) com coloração preta, considerado produtor de biofilme. **B.** Isolado (F1R13/6) com coloração avermelhada, considerado não-produtor.

Ababneh e colaboradores (2022) analisaram o total de 234 amostras, que incluíam 154 vegetais e hortaliças (hortelã, rúcula, rabanete vermelho, pepino) e

80 frutas (maçã vermelha, pêra, morango, uva verde, goiaba). De dezessete isolados encontrados nas 234 amostras, 13 (76,5%) foram identificados como *A. baumannii* e se mostraram produtores de biofilme. Mohamed e colaboradores (2022), coletaram e analisaram 100 amostras de leite cru, oriundas de mercados nas províncias de Qena, no Egito. Os autores também utilizaram o método de Freeman e colaboradores, com ágar vermelho congo para testar um total de 9 isolados e detectaram a presença de 8 (88,8%) isolados produtores de biofilmes, identificados como *A. baumannii*.

A produção de biofilme e *Acinetobacter* spp. estão intimamente associados e correlacionados em diversos estudos, sendo este um fator de extrema importância para compreensão da disseminação patogênica. A dinâmica de expressão de fatores de virulência pode ocorrer pelo livre trânsito de genes, por meio de conjugação ou transformação e o biofilme é o local bem sucedido para o exercício desta troca genética, implicando a formação

de novas cepas de *Acinetobacter* com novas estratégias de virulência e resistência (Roy *et al.*, 2023). Em alimentos, o biofilme apresenta fator de resistência a desinfetantes, sanitizantes, antibióticos e locais com estresse ambiental, facilitando a veiculação entre diferentes vias de transmissão, redes de abastecimento de alimentos, redes de abastecimento de água e rede de cuidados médicos. (ABABNEH *et al.*, 2022, FERNANDES *et al.*, 2022; KOUTSOUMANIS *et al.*, 2021; LUPO *et al.*, 2014).

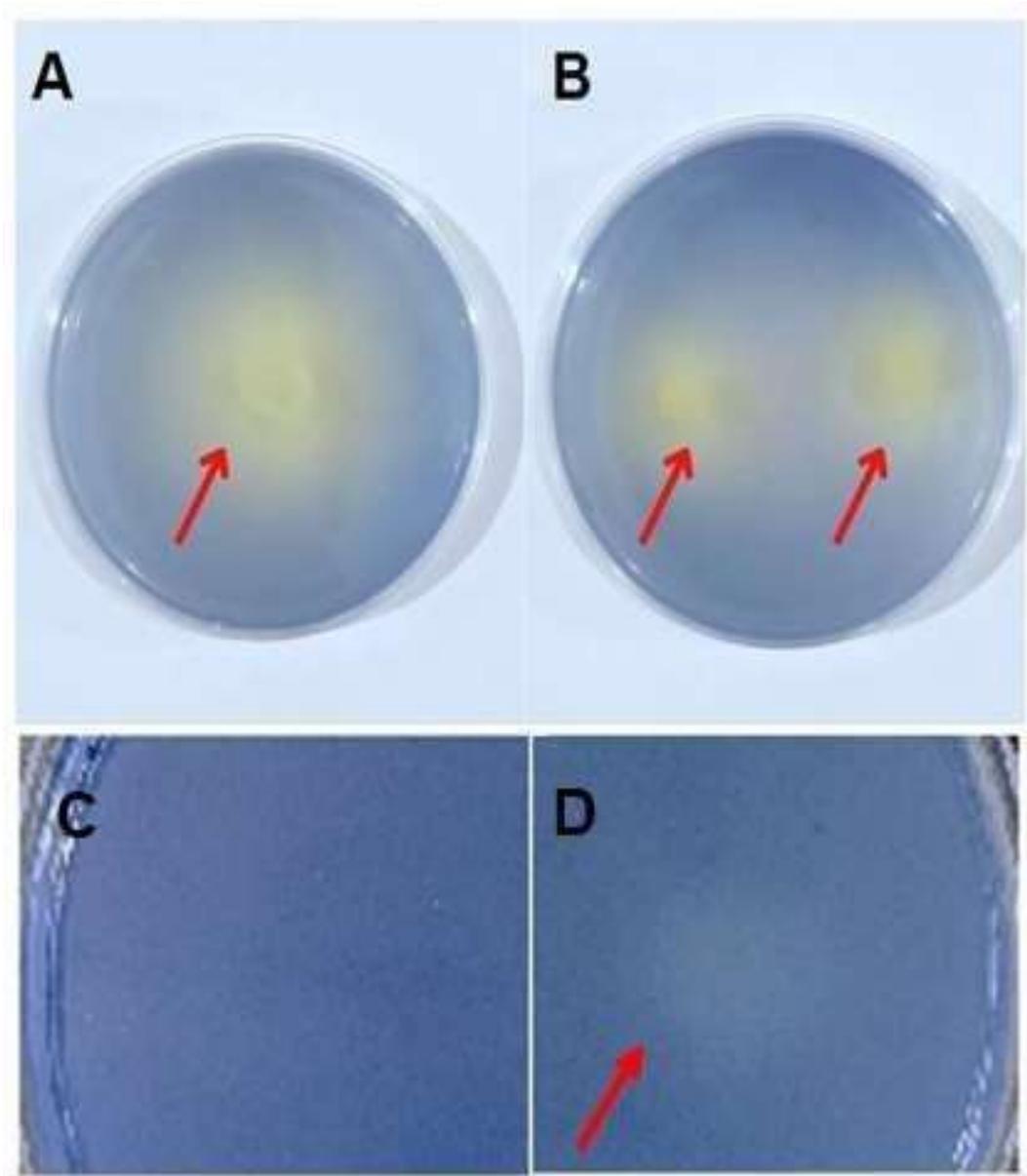
Em modelo *in vivo*, o biofilme de *A. baumannii* foi capaz de reduzir a motilidade à superfície intestinal, facilitando adesão à superfície, promoção e progressão do início da doença (AHMAD *et al.*, 2023; REGALADO *et al.*, 2009).

### 6.1.2 Avaliação da atividade lipolítica

As lipases, em termos conceituais, podem ser caracterizadas como carboxilesterases que exercem uma função catalítica na hidrólise de acilgliceróis de cadeias longas. Essas enzimas desempenham uma função de destaque na hidrólise de ésteres lipídicos, exemplificada pela sua capacidade de romper triglicerídeos, resultando na produção de ácidos graxos e glicerol. A complexidade dessa substância é acentuada pelas suas características notáveis, que incluem termoestabilidade, capacidade de resistir a variações extremas de pH, estabilidade em meio a solventes orgânicos e uma baixa especificidade em relação aos substratos (GURURAJ *et al.*, 2016; SKJOLD-JØRGENSEN *et al.*, 2017).

Todos os isolados de *Acinetobacter* utilizados neste trabalho apresentaram atividade lipolítica no ágar Spirit blue. A formação de halo claro, como exemplificada na **Figura 7**, demonstra a produção de lipases pelos isolados de *Acinetobacter*.

É importante salientar que a produção de lipase por cepas de *Acinetobacter* pode ser considerada um possível indicador de virulência bacteriana, uma vez que essa capacidade proporciona resistência a fatores estressores presentes no ambiente do sistema gastrointestinal. Adicionalmente, quando essas enzimas são associadas a alimentos, elas podem desencadear modificações sensoriais nos produtos alimentares, tecnológicos e conseqüentemente de ordem financeira, influenciando assim a qualidade e a aceitação pelo consumidor (SNELLMAN *et al.*, 2004, ELHOSSEINY *et al.*, 2016; ENESPA *et al.*, 2023).



**Figura 7:** Atividade lipolítica em ágar Spirit blue acrescido de substrato para lipases. As setas apontam para a formação de halo claro ao redor do crescimento, indicando a produção de lipases pelos isolados de *Acinetobacter*. **A.** Isolado 2008; **B.** Isolados 1715 e F1R13/7. O meio de cultura não inoculado e o crescimento de um isolado de *S. aureus* não produtor de lipase estão apresentados, respectivamente, em **C** e **D**.

### 6.1.3 Análise do fenótipo de multirresistência a antibióticos (MDR)

*Acinetobacter* é um patógeno que desenvolve diversos mecanismos para superar o estresse ambiental. Em alguns casos, esses mecanismos envolvem a resistência a antibióticos. Esse patógeno pode apresentar modificações e potencializar a resistência microbiana, tais como deficiência na permeabilidade da membrana, modificação nas enzimas isotopomerase e DNA girase, superexpressão da bomba de efluxo, dentre outros mecanismos de resistência (SALEHI *et al.*, 2018).

Os isolados de *Acinetobacter* spp. utilizados neste trabalho foram submetidos ao teste qualitativo para avaliar o fenótipo de multirresistência a antibióticos (MDR), usando o meio de cultura CHROMagar *Acinetobacter* MDR<sup>®</sup>. Este meio é um ágar seletivo e diferencial para recuperação de isolados resistentes a carbapenêmicos e produtores de  $\beta$ -lactamases, que utiliza substratos para a identificação através de cores, onde a coloração vermelha é considerada positiva para o fenótipo MDR, enquanto testes com colorações azuis-claro ou a não formação de colônias, são considerados negativos (GORDON & WAREHAM, 2009, YUSUF & SKIEBE, 2023).

Todos os isolados testados expressam o fenótipo MDR no ágar CHROMagar *Acinetobacter* MDR<sup>®</sup>. A **Figura 8** representa o aspecto de um desses isolados.

Outros estudos recentes, utilizaram esse método para identificação de patógenos multirresistentes a antibióticos. Carvalheira e colaboradores, em 2021, também caracterizaram *Acinetobacter* spp. oriundos de carne, frutas e vegetais, utilizando o método CHROMagar<sup>®</sup>. Em seus resultados, de 181 cepas recuperadas de frutas e vegetais e de 156 cepas recuperadas de carne, 11% e 18,7% respectivamente, eram *A. baumannii*. Os autores verificaram que 29,8% dos isolados de frutas e de alfaces e 51,2% dos isolados de carne, eram multirresistentes a antibióticos. Mais recentemente, Ababneh e colaboradores (2022) verificaram que, dos dezessete isolados analisados oriundos de frutas e hortaliças, treze (76,5%) foram considerados positivos utilizando-se o meio CHROMagar<sup>®</sup>, indicando a presença de isolados de *A. baumannii* multirresistentes.



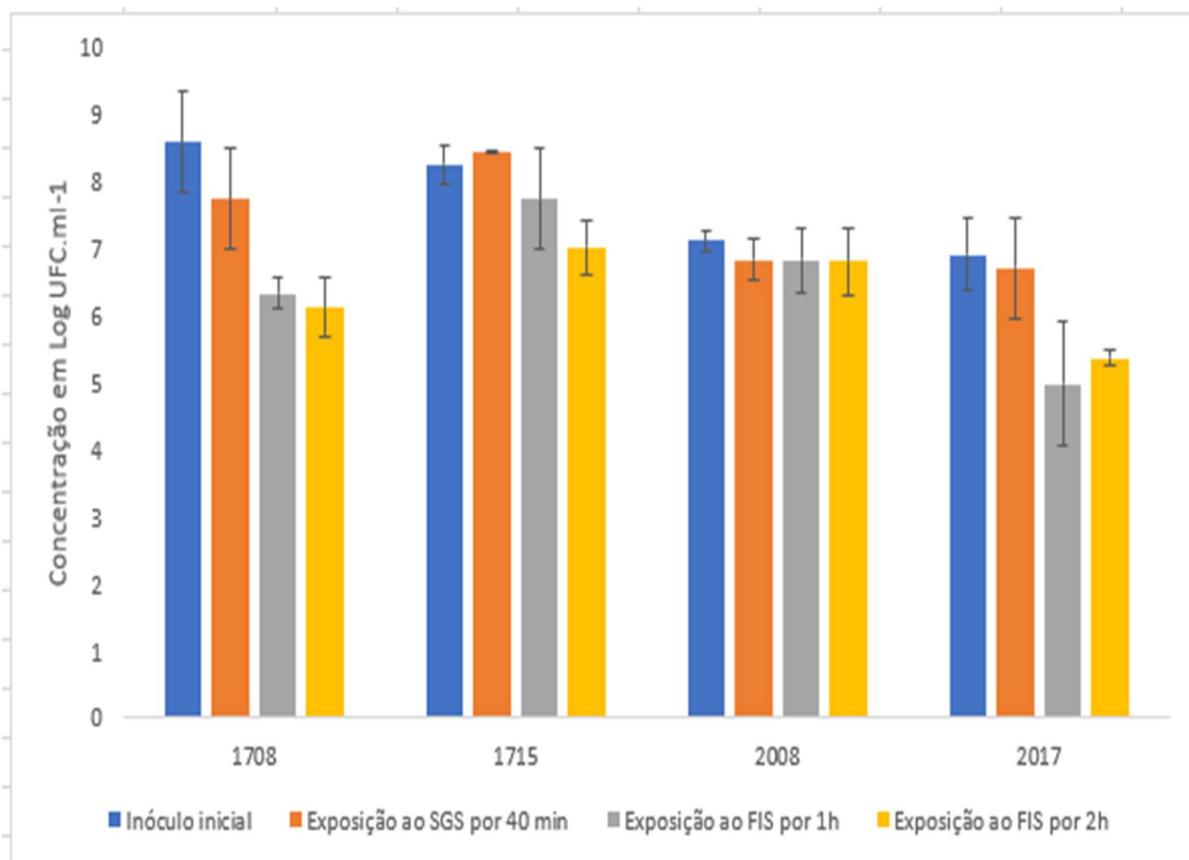
**Figura 8.** Meio CHROMagar Acinetobacter MDR<sup>®</sup> apresentando um isolado (F1R13/6) com coloração vermelha, caracterizando o fenótipo MDR.

## 6.2. Avaliação da tolerância às condições gastrointestinais simuladas

O resultado do comportamento de *Acinetobacter* spp. à exposição ao SGS e ao FIS está expresso graficamente nas **Figuras 9** e **10**. Para esses experimentos foram testados apenas onze isolados, sendo os quatro oriundos de leite de cabra cru (*A. guillauiae* 1708 e 1715; *A. ursingii* 2008 e 2017) e sete dos isolados provenientes de saladas prontas para consumo (*A. baumannii* F3R13/1, F2R13/7, F1R13/6 e F3R18/7; *A. gernerii* F5R14/3; *A. nosocomialis* F4R15/7 e F4R15/6).

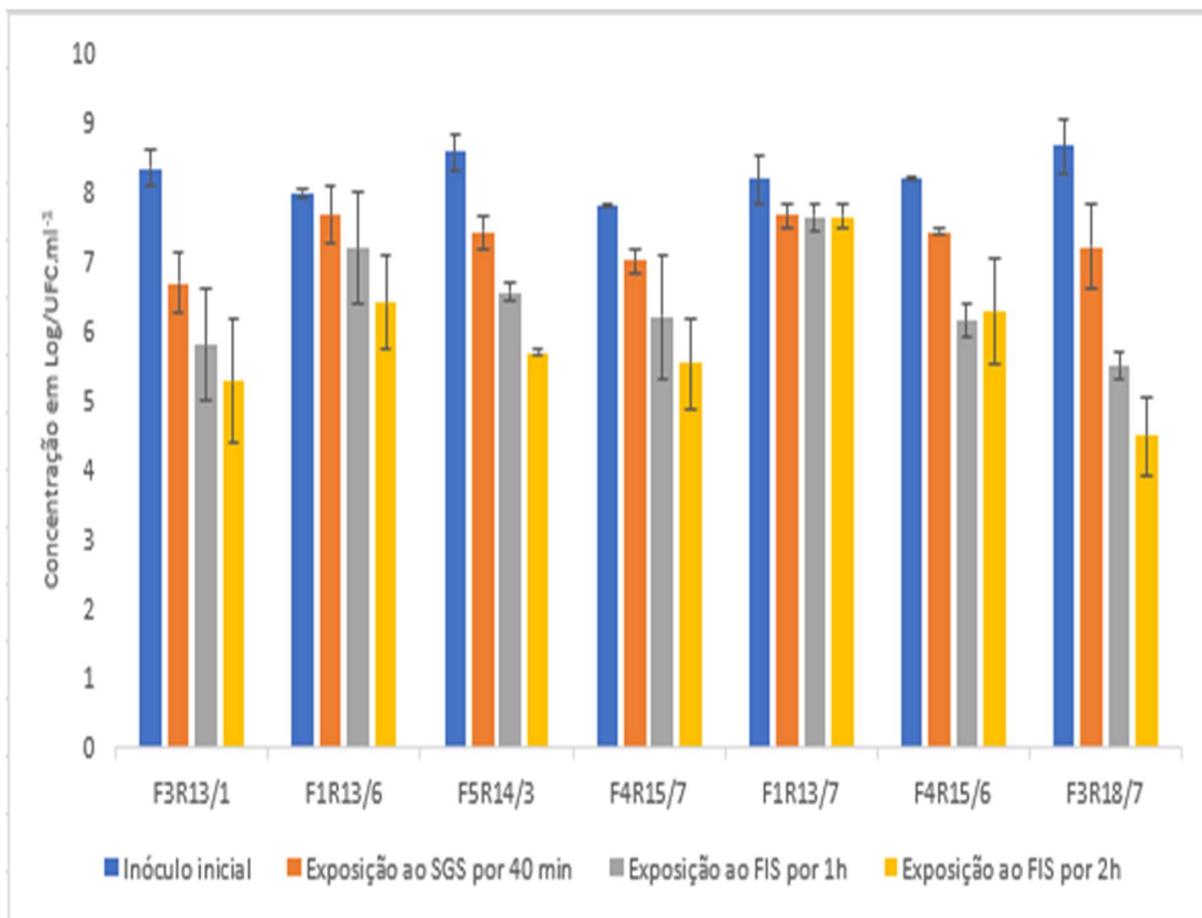
Ao iniciar os experimentos *in vitro*, foram obtidas as contagens iniciais de 8,59, 8,27, 7,12 e 6,92 log UFC.ml<sup>-1</sup> para os isolados provenientes de leite de cabra cru 1708, 1715, 2008 e 2017, respectivamente. Após 40 minutos em contato com o SGS sob pH 2,0, esses isolados apresentaram uma leve redução de 0,84, 0,57, 0,28 e 0,21 log UFC.ml<sup>-1</sup>, respectivamente.

Ao serem submetidos à exposição ao FIS por 1 e 2 horas, na presença de sais biliares e de tripsina, os isolados de leite de cabra cru apresentaram uma redução na contagem inferior a 1 log UFC.ml<sup>-1</sup> quando comparada aos valores apresentados após a exposição ao SGS. Observa-se, na **Figura 9**, que o isolado 2008 foi o que apresentou maior tolerância ao SGS e ao FIS, mantendo contagens muito próximas entre os tempo inicial e o tempo final dos experimentos.



**Figura 9.** Tolerância dos isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de leite de cabra cru às condições gastrointestinais simuladas.

Os sete isolados provenientes de saladas prontas para consumo foram submetidos aos mesmos procedimentos que os isolados oriundos de leite de cabra cru e os resultados estão apresentados na **Figura 10**. No tempo inicial, foram obtidas contagens entre 7,99 e 8,34 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Após 40 minutos de exposição ao SGS, três isolados (F3R13/1, F5R14/3 e F3R18/7) apresentaram reduções na contagem superiores a 1 log UFC.ml<sup>-1</sup>. Os demais isolados, no entanto, apresentaram tolerância semelhante aos isolados de leite, mantendo uma redução na contagem inicial inferior a esse valor, sugerindo uma maior tolerância ao SGS. Com a finalidade de mimetizar a passagem pelo intestino, os isolados provenientes de salada foram expostos ao FIS. Após as 2 horas de exposição, seis isolados tiveram redução inferior a 1 log UFC.ml<sup>-1</sup>, enquanto apenas o isolado F3R18/7 (*A. baumannii*), apresentou redução superior a 1 log UFC.ml<sup>-1</sup>. O isolado F1R13/7 (*A. nosocomialis*), foi o que se mostrou mais tolerante às condições gastrointestinais testadas, apresentando uma redução total de apenas 0,53 log UFC.ml<sup>-1</sup>, enquanto que o mais sensível a essas condições foi o isolado F3R18/7, com uma redução total de 4,17 log UFC. ml<sup>-1</sup>, correspondendo a 48% da contagem inicial.



**Figura 10.** Tolerância dos isolados de *Acinetobacter* spp. provenientes de saladas prontas para consumo às condições gastrointestinais simuladas.

Notou-se que os isolados provenientes de leite de cabra cru pareceram mais tolerantes às condições gastrointestinais do que os isolados provenientes de saladas. Entretanto, a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,1685$ ).

O presente trabalho é pioneiro ao analisar a tolerância de *Acinetobacter* spp. provenientes de alimentos a fluidos gastrointestinais simulados, não sendo possível, dessa forma, a comparação dos resultados obtidos nessa dissertação com outros trabalhos com o mesmo micro-organismo alvo. No entanto, nossos resultados foram similares ao de estudos realizados com patógenos alimentares clássicos.

Piennar e colaboradores analisaram dois grupos de isolados de *Escherichia coli* enteropatogênica e *Escherichia coli* enterotoxigênica, que foram expostas a condições gástricas com variações de pH por 180 minutos. Os autores verificaram que os dois grupos de *E. coli* são capazes de sobreviverem mesmo com lesões na membrana. Verificaram, ainda, que cepas de *E. coli* enterotoxigênica são capazes de manter-se vivas e cultiváveis em todos os pHs, enquanto as *E. coli* enteropatogênicas, não se desenvolveram em pH 1,5 e 2,5, mas mantiveram-se vivas mesmo, com lesões na membrana plasmática, porém no estado VBNC

(viável mas não cultivável, do inglês “viable but non-culturable”) (PIENNAR *et al.*, 2016). Embora não tenha sido observado em nossos estudos, o estado VBNC já foi observado em estirpes de *Acinetobacter* de origem clínica (KÖNIG *et al.*, 2023).

Em nossos estudos, os isolados de *Acinetobacter* isolados de alimentos apresentaram uma boa tolerância ao SGS com pH 2,0, apresentando uma redução de no máximo 19,7 % do inóculo inicial (**Tabela 5**). O pH baixo parece também não ser decisivo para a sobrevivência de patógenos alimentares como *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella* Typhimurium e *Vibrio cholerae*. Mesmo sofrendo alguns danos em suas células, esses patógenos são capazes de tolerar a exposição ao suco gástrico por um tempo variando entre 30 a 180 minutos (SINGH & BARNARD 2016; SINGH & BARNARD 2017).

**Tabela 5.** Porcentagem de redução da contagem inicial dos isolados de *Acinetobacter* spp. isolados de alimentos após a exposição às condições gastrointestinais simuladas.

Origem / Isolados	Redução (em %) após exposição		
	SGS	FIS	
Leite de cabra cru	1708	11,7	28,6
	1715	ND	15,1
	2008	3,9	4,4
	2017	3,5	18,1
Saladas prontas para consumo	F3R13/1	19,7	36,6
	F1R13/6	3,9	19,8
	F5R14/3	13,4	33,7
	F4R15/7	10,1	29,1
	F2R13/7	6,3	6,27
	F4R15/6	9,5	23,6
	F3R18/7	16,7	48,1

ND – não detectada

No entanto, para que um patógeno alimentar possa estabelecer colonização no trato intestinal humano, é essencial que ele seja capaz de resistir ao estresse local, que inclui: a alteração de pH, concentração de sais biliares (os quais desempenham um papel detergente na emulsificação de gorduras, facilitando a degradação dos lipídios presente na membrana plasmática) e a presença de tripsina no suco pancreático, sendo crucial nesse processo, uma

vez que esta enzima proteolítica desempenha o papel de proteólise, promovendo a quebra de proteínas em aminoácidos (ZHANG *et al.*, 2016; JOFFRE *et al.*, 2019).

No atual estudo, todos os isolados de leite de cabra cru e seis dos isolados de saladas, apresentaram redução menor do que 1 log UFC.ml<sup>-1</sup> ao serem expostos ao FIS, sugerindo maior tolerância a essas condições. A redução total da população desses isolados após as 2h totais de exposição ao SGI variou entre 4,4 e 48,1% (**Tabela 5**), o que corresponde a uma sobrevivência de 51,9 a 95,6% do inóculo inicial. Essa alta tolerância também foi observada com outros patógenos alimentares. Mathipa e colaboradores (2015), descreveram o comportamento de estirpes de *E. coli* enterohemorrágica em um modelo gastrointestinal simulado, onde verificou-se a tolerância dessas bactérias após 120 minutos de exposição. A tolerância de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* às mesmas condições foi averiguada em outro estudo, em que os autores destacam grande tolerância desses patógenos aos sais biliares (MATHIPA *et al.*, 2015; AKIRITIDOU *et al.*, 2022).

### **6.3 Inferência do potencial de colonização do sistema gastrointestinal por ingestão de alimentos contaminados por *Acinetobacter* spp.**

O gênero *Acinetobacter* está comumente associado a infecções hospitalares e ao desenvolvimento de sintomas agravantes, mas é pouco associado como causador de quadros clínicos gastrointestinais, isto porque a investigação de sintomas diarreicos é mais direcionada a outros patógenos alimentares clássicos. Entretanto, *Acinetobacter* é considerado patógeno oportunista e apresenta potencial para ser um bom competidor na microbiota humana e em produtos alimentícios (CERQUEIRA *et al.*, 2011, FERNANDES *et al.*, 2022 e GLOVER, *et al.*, 2022).

A notoriedade atribuída ao gênero *Acinetobacter* advém de sua característica patogênica, expressa através de uma resistência a múltiplos antibióticos, capacidade de disseminação e manifestação de patogenicidade. Embora este microrganismo seja comumente associado a contextos hospitalares, diversas pesquisas têm documentado a presença de *Acinetobacter* spp. em alimentos de origem variada, evidenciando a existência de distintos fatores de virulência (ASKARI *et al.*, 2020; RABELO *et al.*, 2021; MALTA *et al.*, 2021; JÍMENEZ- BELENGUER *et al.*, 2023; ABUÍN, *et al.*, 2022; COSTA- RIBEIRO *et al.*, 2024).

Os resultados demonstram que alguns isolados de *Acinetobacter* spp. estudados neste trabalho, tanto isolados de leite de cabra cru quanto de saladas prontas, poderiam chegar ao intestino e permanecer viáveis sob ação de sais biliares e enzimas proteolíticas em

concentrações muito semelhantes ao inóculo inicial (por exemplo, isolados F1R13/ 7 e 2008).

A capacidade de sobrevivência dos isolados de *Acinetobacter* spp. deste trabalho aos fluidos gástricos e intestinais, com pouca diminuição da contagem inicial mesmo sob essas condições de estresse, aumenta ainda mais o possível risco de infecção caso sejam consumidos em um alimento contaminado.

## 7 CONCLUSÕES

Isolados de *Acinetobacter* spp. têm sido comumente obtidos a partir de alimentos de diferentes origens, embora a relevância da sua presença e o seu papel como patógeno alimentar seja pouco discutido na área de Alimentos. Raros trabalhos na área clínica, entretanto, têm alertado para a possibilidade de colonização do sistema gastrointestinal por *Acinetobacter* spp., mas sem comprovação.

Essa escassez de dados pode ser devida ao fato de que geralmente somente os patógenos alimentares clássicos são considerados em casos de infecções gastrointestinais e por isso, os isolados de *Acinetobacter* spp. acabam sendo subestimados ou pelo fato de que a infecção pode se iniciar no trato gastrintestinal e evoluir, posteriormente, para bacteremia ou sepse, quando somente então é detectada.

De qualquer forma, é certo que alimentos de diferentes origens podem servir como porta de entrada desse patógeno para o organismo humano, porém, é a capacidade de sobreviver à passagem pelo sistema gastrointestinal que se torna um elemento de suma importância para a colonização intestinal e, conseqüentemente, desencadear doenças transmitidas por alimentos e outras infecções posteriores no consumidor.

Os resultados demonstram que os isolados de *Acinetobacter* spp. submetidos ao sistema gastrointestinal simulado apresentaram alta tolerância a essas condições, com baixa redução da contagem celular entre o inóculo inicial e o final da exposição, resultando em uma taxa de sobrevivência variando de aproximadamente 52 a 95%.

Este estudo é, portanto, um alerta para a capacidade de *Acinetobacter* spp. de contornar as defesas primárias do sistema gastrointestinal humano, o que pode ocorrer especialmente em idosos, crianças pequenas e indivíduos imunocomprometidos, que poderiam ser mais suscetíveis a infecções gastrointestinais causadas por esse micro-organismo. Associado a isso, é importante destacar a alta frequência de multirresistência a antibióticos apresentada por esses micro-organismos, tornando o tratamento mais difícil. Experimentos futuros para investigar a interação desses e de outros isolados com diferentes tipos de alimentos e sua capacidade de competir com a microbiota intestinal podem corroborar com os resultados obtidos neste estudo.

## 8 PRODUÇÃO TÉCNICA E CIENTÍFICA ATÉ O MOMENTO

### Artigo científico publicado

- **MONTEIRO, R. C.**, MALTA, R. C. R.; RODRIGUES, G. L., RAMOS, G. L. P. A., NASCIMENTO, J. S. *Acinetobacter baumannii*: a known pathogen, a new problem. *Germs*, v. 13, n. 4, p. 381-384, 2023.

### Artigo científico submetido

- **MONTEIRO, R. C.**, NASCIMENTO, M. S. G., NASCIMENTO, J. S. Survival of *Acinetobacter* spp. food isolates to simulated gastrointestinal conditions: evaluation of the potential as foodborne pathogens. Submetido para "Current Microbiology".

### Artigo técnico submetido

- **MONTEIRO, R. C.**, RODRIGUES, A. V. C., NASCIMENTO, J. S. Potencial de aplicação de óleos essenciais no controle de *Acinetobacter* spp. em alimentos. *Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*, v. 4, n.1, p. 1-16, 2023.

### Capítulo em Livro

- HOLANDA, T. S., NASCIMENTO, M. S. G., **MONTEIRO, R. C.**, NASCIMENTO, J. S. Implicações da produção de biofilme por *Acinetobacter* spp. para a área clínica e de alimentos. *In: Pesquisa e avanços em segurança de alimentos*. 1 ed. Jardim do Seridó, RN: Agron Food Academy, v.1, p. 515-524, 2023.

### Resumos em anais de eventos

- **MONTEIRO, R. C.**, NASCIMENTO, M. S. G., NASCIMENTO, J. S. Tolerância de *Acinetobacter* spp. isolados de leite de cabra cru à condições gastrointestinais simuladas. 15 ° SLACAN- Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos e Nutrição, Campinas - São Paulo, Brasil, 2023.
- **MONTEIRO, R. C.**, FERNANDES, L. M., NASCIMENTO, M. S. G.,

NASCIMENTO, J. S. Produção de biofilme e expressão de fenótipo de multirresistência a antibióticos por isolados de *Acinetobacter* spp. oriundo de saladas. 32° Congresso Brasileiro de Microbiologia, Foz do Iguaçu - PR, Brasil, 2023.

- **MONTEIRO, R. C.**, NASCIMENTO, J. S. Óleos essenciais contra *Acinetobacter* spp. isolados em alimentos. Anais do II Simpósio Integrado de Inovação em Tecnologia de Alimentos, p. 478-481, 2022. ISBN 978-65-8888-428- 7.

## 9. REFERÊNCIAS

ABABNEH, Q.; AL SBEI, S.; JARADAT, Z.; SYAJ, S.; ALDAKEN, N.; ABABNEH, H.; INAYA, Z. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: role of conjugative plasmids in transferring resistance. **PeerJ**, Lubbock, v. 11, e14709, p. 2-21, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.14709>. Acesso em: 20 mar. 2024.

ABABNEH, Q.; AL-ROUSAN, E.; JARADAT, Z. Fresh produce as a potential vehicle for transmission of *Acinetobacter baumannii*. **International Journal of Food Contamination**, Jordan, v. 9, n. 1, p. 1-9, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00092-7>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ABRANTES, J. A.; NOGUEIRA, J.. Biofilme e células persisters: da persistência à resistência microbiana. **RBAC**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 3, p. 228-234, set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202200074>. Acesso em: 21 mar. 2024.

ABUÍN, C. M. F.; CALLEJA, C. A.; ESCÁMEZ, P. F.; ARRIBAS, V. M.; MORAGAS, G.S.; DÍAZ, A. V. Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the prospection of biological hazards of interest in food safety in Spain (2). **Revista del Comité Científico de la AESAN**, Calle de Alcalá, v. 1, n. 36, p. 161-207, mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2023.FR-0003>. Acesso em: 21 mar. 2024.

AHMAD, I.; ADEEM, F.; MUSHTAQ, F.; ZLATKOV, N.; SHAHZAD, M.; ZAVIALOV, A.V.; WAI, S. N.; UHLIN, B.E. Csu pili dependent biofilm formation and virulence of *Acinetobacter baumannii*. **NPJ Biofilms and Microbiomes**, Londres, v. 9, n. 1, p. 101, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00465-6>. Acesso em: 20 mar. 2024.

AKRITIDOU, T.; AKKERMANS, S.; GASPARI, S.; AZRAINI, N. D.; SMET, C.; DE WIELE, T. V.; VAN IMPE, J. F. M. Effect of gastric pH and bile acids on the survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* during simulated gastrointestinal digestion. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Wageningen, v. 82, p. 103-161, dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103161>. Acesso em: 19 mar. 2024.

AI ATROUNI, A.; JOLY- GUILLOU, M. L.; HAMZE, M.; KEMPF, M.. Reservoirs of Non-*baumannii* *Acinetobacter* Species. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v.7, n. 49, p. 1-12,

jan. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00049>. Acesso em: 21 mar. 2024.

ALEMAN, R.; MONCADA, M.; ARYANA, K. Leaky gut and the ingredients that help treat it: a review. **Molecules**, Basileia, v. 28, n. 619, p. 1-34, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules28020619>. Acesso em: 18 mar. 2024.

ALVES, M. J.; REBELO, M.; GONÇALVES, V.; PIEDADE, J.; ROCHA, R.; BARREIRA, J.; FERREIRA, I. Biofilme bacteriano e infecção hospitalar. **Saúde: Conexões e Sustentabilidade para o Entendimento Global**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 110-122, nov. 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10198/17400>. Acesso em: 21 mar. 2024.

AMORIM, A.; NASCIMENTO, J. *Acinetobacter*: an underrated foodborne pathogen?. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Viale Porto Torres, v. 11, n. 02, p. 111-114, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.8418>. Acesso em: 20 mar. 2024.

ASKARI, N.; MOMTAZ, H.; TAJBAKSH, E. *Acinetobacter baumannii* in sheep, goat, and camel raw meat: virulence and antibiotic resistance pattern. **AIMS Microbiology**, Springfield, v. 5, n. 3, p. 272-284, ago./set. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3934/microbiol.2019.3.272>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ASKARI, N.; MOMTAZ, H.; TAJBAKSH, E. Prevalence and phenotypic pattern of antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* isolated from different types of raw meat samples in Isfahan, Iran. **Veterinary Medicine and Science**, Shahrekord, v. 6, n. 1, p. 147-153, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/vms3.199>. Acesso em: 20 mar. 2024.

BELTRÃO, J. **Avaliação da qualidade microbiológica de saladas de hortaliças cruas prontas ao consumo e identificação do perfil de resistência a antibióticos das enterobactérias isoladas**, 2019. Orientadora: Alice Gonçalves Martins Gonzalez. 2019. 108 f. Dissertação. Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2019. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/12702/Beltr%C3%A3o%20Jhonathan%20Campos%20do%20Couto%2c%202019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, acesso em 21 mar. 2024.

BADEA, A. **Resistencia microbiana a antibióticos betalactámicos y carbapenémicos en carnes de consumo**, 2023. Orientador: Rosa Maria Montes Esttéles. 2023. 44. Trabajo Fin

de Grado. Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universitat Politècnica de València, Valencia, 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10251/196492>. Acesso em: 18 mar. 2024.

BERG, G.; ERLACHER, A.; SMALLA, K.; KRAUSE, R. Vegetable microbiomes: is there a connection among opportunistic infections, human health and our “gut feeling”? **Microbial Biotechnology**, [S.l.], v. 7, n. 6, p. 487-495, nov. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12159>. Acesso em: 20 mar. 2024.

BERTHOLD-PLUTA, A.; PLUTA, A.; GARBOWSKA, M. The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. **Microbial pathogenesis**, [S.l.], v. 82, n. 1, p. 7-14, mai. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.03.015>. Acesso em: 19 mar. 2024.

BHUNIA, A. **Foodborne Microbial Pathogens**. New York: Food Science Text Series, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1>. Acesso em: 21 mar. 2024.

BITAR, I.; MEDVECKY, M.; GELBICOVA, T.; JAKUBU, V.; HRABACK, J.; ZEMLICKOVA, H.; KARPISKOVA, R.; DOLEJSKA, M. Complete nucleotide sequences of mcr-4.3-carrying plasmids in *Acinetobacter baumannii* sequence type 345 of human and food origin from the Czech Republic, the first case in Europe. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 63, e01166-19, set. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.01166-19>. Acesso em: 20 mar. 2024.

BRAHMI, S.; TOUATI, A.; CADIÈRE, A.; DJAHMI, N.; PANTEL, A.; SOTTO, A.; LAVIGNE, J. P.; DUNYACH-REMY, C. First description of two sequence type 2 *Acinetobacter baumannii* isolates carrying OXA-23 carbapenemase in *Pagellus acarne* fished from the Mediterranean Sea near Bejaia, Algeria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 60, n. 4, p. 2513-2515, mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aac.02384-15>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CAMILLERI, M.; MADSEN, K.; SPILLER, R.; VAN MEERVELD, B. G.; VERNE, G. N. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. **Neurogastroenterology & Motility**, [S.l.], v. 24, n. 6, p. 503-512, jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x>. Acesso em: 18 mar. 2024.

CARVALHEIRA, A.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. *Acinetobacter* spp. in food and drinking water—A review. **Food Microbiology**, Guelph, v. 95, p. 103675, mai. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103675>. Acesso em: 21 mar. 2024.

CARVALHEIRA, A. **Acinetobacter and public health: risks posed by strains isolated from foods**, 2021. Orientadora: Dra. Paula Cristina Maia Teixeira. 2021. Número de páginas. Tese. Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.14/36392>. Acesso em: 18 mar. 2024.

CARVALHEIRA, A.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. Lettuce and fruits as a source of multidrug resistant *Acinetobacter* spp. **Food Microbiology**, Guelph, v. 64, n. xx, p. 119-125, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.005>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CASTRO, A. R. **O papel da disbiose intestinal na esclerose múltipla**, 2020. Orientadora: Dra. Ana Alexandra Duarte Martins da Silva. 2020. 30. Dissertação (Mestrado) - Mestrado Integrado em Medicina, Universidade do Porto, Porto, 2020. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10216/127944>. Acesso em: 20 mar. 2024.

CATÃO, R. M. R.; NUNES, L. E.; CATÃO, R. R.; DE CASTRO, A. R. L. Infecções por *Acinetobacter* spp. Um oportunista nosocomial multirresistente. In Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde, 2, ANO, Campina Grande. **Anais CONBRACIS** [...], Campina Grande: Realize Editora, 2017, p. 27-34. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/29379>. Acesso em: 18 mar. 2024.

CRAIG, M. **CDC. AR Threats Report. In: Antibiotic / Antimicrobial Resistance (AR / AMR)**, 2019. 20 mar. 2024. Apresentação em Power Point. Disponível em: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/threats/index.html>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CEKANAVICIUTE, E.; YOO, B. B.; RUNIA, T. F.; DEBILUS, J. W.; SINGH, S.; NELSON, C. A.; KANNER, R.; BENCOSME, Y.; LEE, Y. K.; HAUSER, S. L.; CRABTREE- HARTMAN, E.; SAND, I. K.; GACIAS, M.; ZHU, Y.; CASACCIA, P.; CREE, B. A. C; KNIGHT, R.; MAZMANIAN, S.; BARANZINI, S. E. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Stanford, v. 114, n. 40, p. 10713-10718, jun./ago. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1711235114>. Acesso em: 20 mar. 2024.

CERQUEIRA, G.; PELEG, A. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. **IUBMB Life**, Paris, v. 63, n. 12, p. 1055-1060, dez. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/iub.533>. Acesso em: 20 mar. 2024.

CHAIRATANA, P.; CHU, H.; CASTILLO, P. A.; SHEN, B.; BEVINS, C.L.; NOLAN, E. M. Proteolysis triggers self-assembly and unmasks innate immune function of a human  $\alpha$ -defensin peptide. **Chemical science**, Liverpool, v. 7, n. 3, p. 1738-1752, nov./dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c5sc04194e>. Acesso em: 20 mar. 2024.

CHO, G. S.; LEE, J.; EEWON, T.; SUNYOUNG, J.; KIM, I.; OH, K. K.; FRANZ, C. M. *Acinetobacter Jeonjuensis* Sp. Nov., *Acinetobacter Wanjuensis* Sp. Nov. And *Acinetobacter Jeollabukensis* Sp. Nov. Isolated from Lettuce and Surrounding Soil in Korea. **SSRN**, Rochester, jan. 2024. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4706664>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CHOI, T.; CHOI, Y.; KOO, J. W.. Mental disorders linked to crosstalk between the gut microbiome and the brain. **Experimental Neurobiology**, Seoul, v. 29, n. 6, p. 403-416, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5607/en20047>. Acesso em: 19 mar. 2024.

COLQUHOUN, J.; RATHER,. Insights into mechanisms of biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* and implications for uropathogenesis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Lausanne, v. 10, n. 253, p. 1-18, mai. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00253>. Acesso em: 19 mar. 2024.

CONCEIÇÃO, C. S.; SOUZA, B. V.; VIEIRA, J. M. B. D.; NASCIMENTO, J. S. Pathogen killing pathogen: antimicrobial substance from *Acinetobacter* active against foodborne pathogens. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Viale Porto Torres, v. 12, n. 5, p. 297-304, mai. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.9894>. Acesso em: 20 mar. 2024.

COSTA-RIBEIRO, A.; AZINHEIRO, S.; MOTA, S.; PRADO, M.; LAMAS, A.; GARRIDO-MAESTU, A. Assessment of the presence of *Acinetobacter* spp. resistant to  $\beta$ -lactams in commercial ready-to-eat salad samples. **Food Microbiology**, Guelp, v. 118, n. 104410, p. 1-9, set./out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.023.104410>. Acesso em: 18 mar. 2024.

RIBEIRO, A. **Evaluation of the Potential Risk Associated to the Presence of Antibiotic Resistant Microorganisms in Food Products**, 2021. Orientador: Dr. Alejandro Garrido-

Maetstu. 2021. 42. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Saúde, Instituto Politecnico do Porto, Porto, 2021. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.22/19671>. Acesso em: 21 mar. 2024.

DAHIRU, M.; ENABULELE, O. *Acinetobacter baumannii* in birds' feces: a public health threat to vegetables and irrigation farmers. **Advances in Microbiology**, Glendale, v. 5, n. 10, p. 693-698, set. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/aim.2015.510072>. Acesso em: 21 mar. 2024.

DAMACENO, N.; FARIAS, L.. Relação existente entre biofilmes bacterianos, Quorum Sensing, infecções e resistência a antibióticos: Uma revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, Goiabeiras, v. 3, n. 1, p. 46-51, abr. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.9788858>. Acesso em: 19 mar. 2024.

DARWIN, C. **A origem das espécies**. São Paulo: Editora Martin Claret, 2004.

ELBEHIRY, A.; MARZOUK, E.; MOUSSA, I. M.; DAWOUD, T. M.; MUBARAK, A. S.; AL-SARAR, D.; ALSUBKI, R. A.; ALHAJI, J. H.; HAMADA, M.; ABALKHAIL, A.; HEMENG, H.A.; ZAHARAN, R. N. *Acinetobacter baumannii* as a community foodborne pathogen: Peptide mass fingerprinting analysis, genotypic of biofilm formation and phenotypic pattern of antimicrobial resistance. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riad, v. 28, n. 1, p. 1158-1166, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.052>. Acesso em: 18 mar. 2024.

ELHOSSEINY, N.M.; EL-TAYEB, O.M.; YASSIN, A.S.; LORY, S.; ATTIA, A.S. The secretome of *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 type II secretion system reveals a novel plasmid encoded phospholipase that could be implicated in lung colonization. **International Journal of Medical Microbiology**, [S.l.], v. 306, n. 8, p. 633- 641, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.09.006>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ENESPA; CHANDRA, P.; SINGH, Devendra P.. Sources, purification, immobilization and industrial applications of microbial lipases: An overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.l.], v. 63, n. 24, p. 6653-6686, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2038076>. Acesso em: 21 mar. 2024.

EZE, E.; CHENIA, H.; ZOWALATY, M.. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and

future antimicrobial treatments. **Infection and Drug Resistance**, Durbaz, p. 2277-2299, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/idr.s169894>. Acesso em: 20 mar. 2024.

FAROUK, S.; ELHINDI, M.; ALOTAIBI, M.. Silicon supplementation mitigates salinity stress on *Ocimum basilicum* L. via improving water balance, ion homeostasis, and antioxidant defense system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.] v. 206, n. 111396, p. 1-11, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111396>. Acesso em: 19 mar. 2024.

FERNANDES, L. M. RAMOS, G. L. P.A.; MALTA, R.C.R, NASCIMENTO, J.S. Tolerance of foodborne *Acinetobacter* spp. to sanitizer agents. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Viale Porto Torres, v. 16, n. 12, p. 1845-1851, ago./out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.17226>. Acesso em: 19 mar. 2024.

GLOVER, J. S. BROWNING.B. D.; TICER, T. D.; ENGEVIK, A.C.; ENGEVIK, M. A. *Acinetobacter calcoaceticus* is well adapted to withstand intestinal stressors and modulate the gut epithelium. **Frontiers in Physiology**, Nashville, v. 13, n. 880024, p. 1-13, mai. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.880024>. Acesso em: 19 mar. 2024.

GROTIUZ, G.; SIROK, A.; GADEA, P.; VARELA, G.; SCHELOTTO, F. Shiga toxin 2-producing *Acinetobacter haemolyticus* associated with a case of bloody diarrhea. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.l.], v. 44, n. 10, p. 3838-3841, out. 2006 Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.00407-06>. Acesso em: 20 mar. 2024.

GÜNERI, C. Determination of antibiotic resistance profiles in *Acinetobacter* species isolated from tank milk. **Journal of Applied Biological Sciences**, Cônia, v. 17, n. 1, p. 39-45, jan. 2023. Disponível em: <https://jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/1109>. Acesso em: 20 mar. 2024.

GURURAJ, P.; RAMALINGAM, S.; DEVI, G. N.; GAUTAM, P. Process optimization for production and purification of a thermostable, organic solvent tolerant lipase from *Acinetobacter* spp. AU07. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 647-657, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.04.002>. Acesso em: 20 mar. 2024.

GORDON, C.; WAREHAM, D.. Evaluation of CHROMagar *Acinetobacter* for detection of enteric carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in samples from critically ill

patients. **Journal of Clinical Microbiology**, [S.l.], v. 47, n. 7, p. 2249-2251, jul. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.00634-09>. Acesso em: 18 mar. 2024.

JEON, J. H.; JANG, K. M.; LEE, J. H.; KANG, L. W.; LEE, S. H. Transmission of antibiotic resistance genes through mobile genetic elements in *Acinetobacter baumannii* and gene-transfer prevention. **Science of The Total Environment**, [S.l.], v. 857, n. 2, p. 159497, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159497>. Acesso em: 20 mar. 2024.

JESUS, J.. **Seleção e identificação de cepas bacterianas produtoras de amilases isoladas da microbiota associada a resíduos agrícolas de cacau e dendê**, 2024. Orientadora: Dra. Samira Abdallah Hanna. 2013. 86. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/15302>. Acesso em: 19 mar. 2024.

JIMÉNEZ-BELENGUER, A. I.; FERRÚS, M. A.;HERNÁNDEZ,M.; GARCÍA- HERNÁNDEZ, J.; MORENO, Y.; CASTILLO, M. A. Prevalence and Characterization of Beta-Lactam and Carbapenem-Resistant Bacteria Isolated from Organic Fresh Produce Retailed in Eastern Spain. **Antibiotics**, v. 12, n. 387, p. 2-15, fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020387>. Acesso em: 20 mar. 2024.

JOFFRE, E.; NICKLASSON, M.; ÁLVAREZ-CARRETERO, S.; XIAO, X.; SUN, L.; NOOKAEW, I. ZHU, B.; SJÖLING, Å. The bile salt glycocholate induces global changes in gene and protein expression and activates virulence in enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Scientific reports**, Londres, v. 9, n. 108, p. 1-14, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36414-z>. Acesso em: 18 mar. 2024.

KARUMATHIL, D. P.; YIN, H. B.; KOLLANOOR-JOHN, A.; VENKITANARAYANAN, K. Prevalence of multidrug-resistant bacteria on fresh vegetables collected from farmers' markets in Connecticut. **Journal of Food Protection**, Des Moines,, v. 79, n. 8, p. 1446-1451, ago. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-15-548>. Acesso em: 21 mar. 2024.

KÖNIG, P.; WILHELM, C. S.; POEHLEIN, A.; ROLF, D.; WIDERA, M.; AVERHOFF, B.; MULLER, V. The VBNC state: a fundamental survival strategy of *Acinetobacter baumannii*. **mBio**, Munique, v. 14, n. 5, p. 1-16, set./out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mbio.02139-23>. Acesso em: 19 mar. 2024.

KOUTSOUMANIS, K.; ALLENDE, A.; ÁLVAREZ- ORDÓÑEZ, A.; BOLTON, D.; BOVER-CID, S.; CHEMALY, M.; DAVIES, R.; DE CESARE, A.; HERMAN, L.; HILBERT, F.; LINDQVIST, R.; NAUTA, M.; RU, G.; SIMMONS, M.; SKANDAMIS, P.; SUFFREDIN, E.; ARGUILLO, H.; BERENDONK, T.; CAVACO, L. M.; GAZE, W.; SCHMITT, H.; TOPP, E.; GUERRA, B.; LIÉBANA, E.; STELLA, P.; PEIXE, L. Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. **EFSA Journal**, Parma, Wiley, v. 19, n. 6, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6651>. Acesso em: 20 mar. 2024.

*Acinetobacter*. In: LPSN. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em <https://psn.dsmz.de/genus/acinetobacter>. Acesso em 06 jan 2023.

LUPO, A.; VOGT, D.; SEIFFERT, S. N.; ENDIMIANI, A.; PERRETEN, V. Antibiotic resistance and phylogenetic characterization of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from commercial raw meat in Switzerland. **Journal of Food Protection**, Des Moines v. 77, n. 11, p. 1976-1981, nov. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-14-073>. Acesso em: 20 mar. 2024.

MALTA, R.; RAMOS, G.; NASCIMENTO, J.. From food to hospital: we need to talk about *Acinetobacter* spp. **Germs**, Bucareste, v. 10, n. 3, p. 210-217, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.18683%2Fgerms.2020.1207>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MALTA, R. C. R.; CRUZ, C. H. S.; SANTOS, J. B.; RAMOS, G. L. P. A.; NASCIMENTO, J. S. *Acinetobacter em alimentos: uma visão geral*. 1st Edition. Ponta Grossa: Atena, 2021. Disponível em: 19 mar. 2024  
<https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/acinetobacter-em-alimentos-uma-visao-geral>. Acesso em: 21 mar. 2024.

MAO, Y.; DOYLE, M. P.; CHEN, J. Role of colanic acid exopolysaccharide in the survival of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 in simulated gastrointestinal fluids. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 42, n. 6, p. 642-647, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2006.01875.x>. Acesso em: 20 mar. 2024.

MARAMBIO, G.; WATKINS, S.; ANDRÉS, G., JANS, J. B. Gastrina: hormona de múltiples funciones. **Revista Hospital Clínico Universidad de Chile**, Santiago, v. 23, p. 139 -147, 2012. Disponível em: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/124261>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MARÍ-ALMIRALL, M.; COSGAYA, C.; PONS, M. J.; NEMEC, A.; OCHOA, T, J.; RUIZ, J.; ROCA, I.; VILA, J. Pathogenic *Acinetobacter* species including the novel *Acinetobacter dijkshoorniae* recovered from market meat in Peru. **International Journal of Food Microbiology**, Utrecht, v. 305, p. 108248, set. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108248>. Acesso em: 18 mar. 2024.

MARIEB, E.; WILHELM, P.; MALLATT, J.. **Anatomia humana**. 7. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.

MATHIPA, M. G.; THANTSHA, M.. Cocktails of probiotics pre-adapted to multiple stress factors are more robust under simulated gastrointestinal conditions than their parental counterparts and exhibit enhanced antagonistic capabilities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Gut pathogens**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 1-14, fev. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13099-015-0053-5>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIES, W.; BRODKORB, A. A. Standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & Function**, Londres, v. 5, n. 6, p. 1113-1124, abr. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>. Acesso em: 18 mar. 2024.

MULET-CABERO, A. I.; EGGER, L.; PORTMANN, R.; MÉNARD, O.; MARZE, S.; MINEKUS, M.; FEUNTEUN, S. L.; SARKAR, A.; GRUNDY, M. M.-L.; CARRIÈRE, F.; GOLDING, M.; DUPONT, D.; RECEIO, I.; BRODKORB, A.; MACKIE, A. A standardised semi-dynamic in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & Function**, Londres, v. 11, n. 2, p. 1702-1720, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9fo01293a>. Acesso em: 19 mar. 2024.

MOHAMED, H. M.; ABD-ELHAFEEZ, H. H.; AL-JABR, O. A.; EL-ZAMKAN, M. A. Characterization of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Raw Milk. **Biology**, Ixelle, v. 11, n. 12, p. 1845, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11121845>. Acesso em: 21 mar. 2024.

MORGADO, K. R. **Avaliação da qualidade microbiológica de hortaliças orgânicas comercializadas na cidade do Rio de Janeiro**, 2022. Orientadora: Dra Hilana Ceotto Vigoder Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas com habilitação em Biotecnologia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

MUKHERJEE, S.; PARTCH, C. L.; LEHOTZKY, R. E.; WHITHAM, C. V.; CHU, H.; BEVINS, C. L.; GARDNER, K. H.; HOOPER, L. V. Regulation of C-type lectin antimicrobial activity by a flexible N-terminal prosegment. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 284, n. 8, p. 4881-4888, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M808077200>. Acesso em: 21 mar. 2024.

NASSER, S.; ABDULRAZAQ, R. Effect of Purified bacteriocin from *Acinetobacter baumannii* on some pathogenic and environmental isolates and its inhibitory effect on hemolysin production from *S. aureus*. **Journal of Chemical Health Risks**, Teerã, v. 12, n. 4, p. 649-658, dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.22034/jchr.2022.691877>. Acesso em: 18 mar. 2024.

NEUHANNIG, C.; RÉGIS, C. dos P.; SOIKA, J. H.; SILVA, L. A. de S.; QUINTANILHA, V. A. B.; BUSSOLOTTO, L. T.; VICENTINI, M. S.; BELLO, S. R. B. Camisa. Intestinal dysbiosis: Correlation with current chronic diseases and nutritional intervention. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 8, n. 6, p. e25861054, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v8i6.1054>. Acesso em: 20 mar. 2024.

NESI, G.; FRANCO, M.; CAPEL, L. A disbiose da microbiota intestinal, sua associação no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas e seus possíveis tratamentos. **Brazilian journal of development**, Curitiba, v. 6, n. 8, p. 63306- 63326, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-677>. Acesso em: 19 mar. 2024.

OKAIYETO, S. OKAIYETO, S. A.; SUTAR, P. P.; CHENC, C.; NI, J. B.; WANG, J.; MUJUMDAR, A. S.; ZHANG, J. S.; XU, M. Q.; FANG, X. M.; ZHANG, C.; XIAO, H. W. Antibiotic Resistant Bacteria in Food Systems: Current Status, Resistance Mechanisms, and Mitigation Strategies. **Agriculture Communications**, [S.I.], p. 100027, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agrcom.2024.100027>. Acesso em: 21 mar. 2024.

PAGANO, M.; MARTINS. A. F.; BARTH, A. L. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 47,

p. 785–792, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.005>. Acesso em: 18 mar. 2024.

PEREIRA, O. F. G. **Concentrações inibitória e bactericida mínimas na atividade antimicrobiana da lisozima**, 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. 2019.

PETTERSEN, K. S.; SKJERDAL, T.; WASTESON, Y.; LINDBÄCK, T.; VEGARUD, G.; COMI, I.; ASPHOLM, M. Survival of *Listeria monocytogenes* during in vitro gastrointestinal digestion after exposure to 5 and 0.5% sodium chloride. **Food microbiology**, [S.l.], v. 77, p. 78-84, fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.08.010>. Acesso em: 21 mar. 2024.

PIENAAR, J. A.; SINGH, A.; BARNARD, T. G. Exploratory study into the culturability and viability of three strains of *Escherichia coli* after exposure to simulated gastric fluid of sub-lethal pHs. **Medical Technology SA**, Howard Place, v. 30, n. 1, p. 36-44, 2016. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10520/EJC193810>. Acesso em: 20 mar. 2024.

POLANCO, N.; MANZI, L. Efecto toxigénico de *Acinetobacter baumannii* aislado en niños con diarrea aguda. **Investigación Clínica**, Maracaibo, v. 49, n. 1, p. 59-67, mar. 2008. Disponível em: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0535-51332008000100007&lang=pt](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332008000100007&lang=pt). Acesso em: 19 mar. 2024.

RABÊLO, C. A.; RICARDO, M.; PORFÍRIO, J. A.; PIMENTEL, T. C.; NASCIMENTO, J. S.; COSTA, L. E. O. Psychrotrophic bacteria in Brazilian organic dairy products: identification, production of deteriorating enzymes and biofilm formation. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 41, p. 799-806, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/fst.68420>. Acesso em: 20 mar. 2024.

RAFEI, R.; HAMZE, M.; PAILHORIÈS, H.; EVEILLARD, M.; MARSOLLIER, L.; JOLY-GUILLOU, M. L.; DABBOUSSI, F.; KEMPF, M.. Extrahuman epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in Lebanon. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 81, n. 7, p. 2359-2367, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.03824-14>. Acesso em: 18 mar. 2024.

RAJIV, H.; TORO, Fadi; TOMBAZZI, Claudio. Physiology, Pepsin. **StatPearls Publishing**, Treasure Island, fev. 2019. Disponível em: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk537005>. Acesso em: 18 mar. 2024

RAMOS, G. L. P. A.; NASCIMENTO, J. S. Characterization of *Acinetobacter* spp. from raw goat Milk. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.49, n. 10, e20190404, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190404>. Acesso em: 19 mar. 2024.

RATHINAVELU, S.; ZAVROS, Y.; MERCHANT, J. L. *Acinetobacter lwoffii* infection and gastritis. **Microbes and Infection**, Paris, v. 5, n. 7, p. 651-657, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(03\)00099-6](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(03)00099-6). Acesso em: 20 mar. 2024.

REGALADO, N. G.; MARTIN, G.; ANTONY, S. J. *Acinetobacter lwoffii*: bacteremia associated with acute gastroenteritis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, [S.l.], v. 7, n. 5, p. 316-317, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2009.06.001>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ROY, S. ROY, S.; CHOWDWHURV, G.; MUKHOPADYAY, A. K.; BASU, S. D. S. Convergence of biofilm formation and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infection. **Frontiers in Medicine**, Lausanne, v. 9, p. 793615, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.793615>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ROCHA, C.N. ROCHA, C.N.; VAZ-MOREIRA, I.; SVENSSON-STADLER, L.; MOORE, E.R.B; MANAIA, C.M. Diversity and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. in water from the source to the tap. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l.], v. 97, p. 329-340, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4190-1>. Acesso em: 20 mar. 2024.

RUSSELL, D. W.; SAMBROOK, J. **Molecular cloning: a laboratory manual**. v.1. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

WEBB, C.; T.; LITHGOW, T. Identification of BamC on the Surface of E. coli. **The BAM complex: methods and protocols**, [S.l.], p. 215-225, 2015. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2871-2\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2871-2_17). Acesso em: 20 mar. 2024.

SALEHI, B.; GOUDARZI, H.; NIKMANESH, B.; HOURI, H.; ALAVI-MOGHASSAM, M. E GHALAVAND, Z. Emergence and characterization of nosocomial multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Tehran, Iran. **Journal of infection and chemotherapy**, Filadelfia, v. 24, n. 7, p. 515-523, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.02.009>. Acesso em: 21 mar. 2024.

SALGADO-CAMARGO, A. D.; CASTRO-JAIMES, S.; GUTIERREZ-RIOS, R. M.; LOZANO, L. F.; ALTAMIRANO-PACHECO, L.; SILVA-SANCHEZ, J.; PÉREZ- OSEGUERA, A.; VOLKOW, P.; CATILLO-RAMÍREZ, S.; CEVALLOS, M. A. Structure and evolution of *Acinetobacter baumannii* plasmids. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 11, p. 1283, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01283>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SALVO ROMERO, E.; ALONSO COTONER, C.; PARDO CAMACHO, C.; CASADO BEDMAR, M.; VICARIO, M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, Madri, v. 107, n. 11, p. 686-96, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.17235/reed.2015.3846/2015>. Acesso em: 19 mar. 2024.

SANTOS ROCHA, P. M.; SITTA, M. J. Z.; MACHADO, F. B.; MIGUEL, C. B.; RODRIGUES, W. F.. Avaliação bacteriológica em *Lactuca sativa* l. comercializada na cidade de Mineiros-GO. In: **Perspectivas em Saúde: Saberes Epidemiológicos, Ciência e Comunidade**. Editora Creative, João Pessoa. p. 21- 33, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.53924/pswr>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SCHÄFER, T. V.; VAKUNENKOVA, O. A.; IVNITSKY, J. J.; GOLOVKO, A.I. Gut Barrier in Critical States of the Body. **Biology Bulletin Reviews**, [S.l], v. 12, n. 4, p. 392-405, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/s2079086422040077>. Acesso em: 19 mar. 2024.

SHARMA, V.; ASERI, G. K.; BHAGWAT, P. K.; JAIN, N.; RANVEER, R. C. Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Acinetobacter movanagherensis* AS isolated from goat rectum. **Food Frontiers**, [S.l], v. 3, n. 1, p. 172-181, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fft2.116>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SHERESTHA, L.; FAN, H. M.; TAO, H.R.; HUANG, J.D. Recent Strategies to Combat Biofilms Using Antimicrobial Agents and Therapeutic Approaches. **Pathogens**, Basel, fev. 2022;11(3):292. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens11030292>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SINGH, A.; BARNARD, T. G. Surviving the acid barrier: responses of pathogenic *Vibrio cholerae* to simulated gastric fluid. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l], v. 100, n. 2, p. 815-824, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7067-2>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SINGH, A.; BARNARD, T. G.. Adaptations in the physiological heterogeneity and viability of *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* and *Salmonella typhimurium*, after exposure to simulated gastric acid fluid. **Microbial pathogenesis**, [S.l.], v. 113, p. 378-384, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.014>. Acesso em: 19 mar. 2024.

SILVA, L. C. A.; LEAL, N. C.; XAVIER, D. E.. An update on the role of Hfq RNA Chaperone in resistance and virulence of *Acinetobacter baumannii*. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, Teresina, v. 8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.26694/repis.v8i1.3066>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SILVA, M. T.; SANTOS, C. M. D. Uma análise histórica sobre a seleção natural: de Darwin-Wallace à síntese estendida da evolução. **Amazônia: Revista de Educação em Ciências e Matemáticas**, Belém, v. 11, n. 22, p. 46-61, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.18542/amazrecm.v11i22.2122>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SILVA, P. S. L.; LIPINSKI, R. W. Hemolytic uremic syndrome associated with *Acinetobacter hemolyticus*. **Renal Failure**, [S.l.], v. 36, n. 7, p. 1122-1124, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/0886022x.2014.917575>. Acesso em: 19 mar. 2024.

SKJOLD-JØRGENSEN, J.; VIND, J.; MOROZ, O. V.; BLAGOVA, E.; BHATIA, V. K.; SVENDSEN, A.; WILSON, K. S.; BJERRUM, M. J. Controlled lid-opening in *Thermomyces lanuginosus* lipase—An engineered switch for studying lipase function. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, [S.l.], v. 1865, n. 1, p. 20-27, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2016.09.016>. Acesso em: 18 mar. 2024.

SMITH, J. L. The role of gastric acid in preventing foodborne disease and how bacteria overcome acid conditions. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 66, n. 7, p. 1292-1303, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.4315/0362-028x-66.7.1292>. Acesso em: 20 mar. 2024.

SNELLMAN, Erick A.; COLWELL, Rita R. *Acinetobacter* lipases: molecular biology, biochemical properties and biotechnological potential. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Fairfax, v. 31, n. 9, p. 391-400, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10295-004-0167-0>. Acesso em: 19 mar. 2024.

TAKIISHI, T.; FENERO, C. I. M.; CÂMARA, N. O. S. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. **Tissue Barriers**, [S.l.], v. 5, n.4, e1373208, set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1373208>. Acesso em: 20 mar. 2024.

TRASTOY, R.; MANSO, T.; FERNÁNDEZ-GARCÍA; L., BLASCO, L.; AMBROA, A.; DEL MOLINO, M. L.P.; BOU, G.; GARCÍA-CONTRERAS, R.; WOOD, T. K.; TOMÁS, M. Mechanisms of bacterial tolerance and persistence in the gastrointestinal and respiratory environments. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 31, n. 4., e00023-18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.00023-18>. Acesso em: 19 mar. 2024.

VANEGAS-MÚNERA, J.; RONCANCIO-VILLAMIL, G.; JIMÉNEZ-QUICENO, J. N. *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. **CES Medicina**, Medelim, v. 28, n. 2, p. 233-246, 2014. Disponível em: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-87052014000200008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87052014000200008). Acesso em: 20 mar. 2024.

VAZ-MOREIRA, I.; NUNES, O. C.; MANAIA, C. M. Ubiquitous and persistent Proteobacteria and other Gram-negative bacteria in drinking water. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 586, p. 1141-1149, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.104>. Acesso em: 18 mar. 2024.

VIEIRA, M. A. M. Ilhas de patogenicidade. **O mundo da saúde**, [S.l.], v. 33, n. 4, p. 406-414, 2009. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mis-24437>. Acesso em: 20 mar. 2024.

WEISS, G. A.; HENNET, T.. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [S.l.], v. 74, n. 16, p. 2959-2977, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2509-x>. Acesso em: 19 mar. 2024.

YE, G.; YE, L.; ZHOU, J.; SHI, L.; YANG, L.; DONG, Z. Challenges in diagnosing community-acquired carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* enterogenic sepsis: A case report. **Medicine**, [S.l.], v. 98, n. 26, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000016248>. Acesso em: 19 mar. 2024.

YUSUF, I.; SKIEBE, E.; WILHARM, G. Evaluation of CHROMagar *Acinetobacter* and MacConkey media for the recovery of *Acinetobacter baumannii* from soil samples. **Letters in**

**Applied Microbiology**, Oxford, v. 76, n. 2, p. ovac051, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/lambio/ovac051>. Acesso em: 20 mar. 2024.

ZHANG, Z.; TANAKA, I.; PAN, Z.; ERNST, P. B.; KIYONO, H.; KURASHIMA, Y. Intestinal homeostasis and inflammation: Gut microbiota at the crossroads of pancreas–intestinal barrier axis. **European Journal of Immunology**, [S.l.], v. 52, n. 7, p. 1035-1046, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/eji.202149532>. Acesso em: 19 mar. 2024.

ZHANG, X. H.; WANG, z.; YIN, B.; WU, H.; TANG, S.; WU, L.; SU, Y. N.; LIN, Y.; LIU, X. Q.; PANG, B.; KEMPER, N.; HARTUNG, J; BAO, E. D. A complex of trypsin and chymotrypsin effectively inhibited growth of pathogenic bacteria inducing cow mastitis and showed synergistic antibacterial activity with antibiotics. **Livestock Science**, [S.l.], v. 188, p. 25-36, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.03.017>. Acesso em: 19 mar. 2024.