

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DE *Staphylococcus aureus* ISOLADO DE LEITE *in natura* DE PEQUENOS PRODUTORES DO ESPÍRITO SANTO

Mariana Costa Milan, Mirian de Souza Seixas, Marina Lima da Silveira, Gabriel de Oliveira Moura, Mariana Drummond Costa Ignacchiti, Juliana Alves Resende

¹Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Departamento de Farmácia e Nutrição/CCENS, Av. Alto Universitário, s/n, Guararema - 29.500-000 - Alegre - ES, Brasil, marianacostamilan@gmail.com, mirianseixas18@gmail.com, marinals2708@gmail.com, gabrieloliveiramoura@gmail.com, mariana.ignacchiti@ufes.br, ju.alves.resende@gmail.com.

Resumo

A resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* representa um desafio crescente para a saúde pública, especialmente quando associada à produção leiteira em pequenas propriedades, onde o uso indiscriminado de antimicrobianos ainda é comum. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de linhagens de *S. aureus* isoladas de leite *in natura* proveniente do interior do Espírito Santo. Foram analisadas 10 amostras de leite, das quais 85 isolados foram recuperados e submetidas ao teste de difusão em disco (Kirby-Bauer). Observou-se resistência à penicilina (58,8%) e à tetraciclina (25,9%), além da presença de nove isolados com perfil multirresistente. Além disso, os isolados demonstraram maior susceptibilidade frente à ciprofloxacina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprima. Os achados reforçam a importância do uso racional de antimicrobianos e do monitoramento contínuo da resistência bacteriana no setor leiteiro.

Palavras-chave: Resistência bacteriana; Saúde pública; Pecuária leiteira.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas, Farmácia.

Introdução

A produção de leite exerce um papel essencial na economia e na segurança alimentar de diversos países, especialmente em regiões com forte presença da agricultura familiar. No Brasil, o leite *in natura* proveniente de pequenas propriedades rurais têm grande representatividade, mas frequentemente está sujeito a práticas de manejo pouco padronizadas, o que pode favorecer a contaminação microbiológica e o uso indiscriminado de antimicrobianos (Lemes *et al.*, 2022; Brasil, 2018). *Staphylococcus aureus* é um patógeno comumente associado à má qualidade do leite, sendo uma das principais causas de mastite bovina. Além do seu potencial zoonótico, destaca-se pela crescente resistência aos antimicrobianos, o que representa um desafio para a saúde pública e para a cadeia produtiva do leite (Quinn *et al.*, 2018; WHO, 2022).

A resistência aos antimicrobianos (RAM) representa hoje um dos maiores desafios à saúde pública global. A exposição contínua e, muitas vezes, inadequada de *S. aureus* aos antimicrobianos gera uma pressão seletiva que favorece a proliferação de cepas resistentes, até mesmo as resistentes à metilicina (MRSA) (Riedel *et al.*, 2022). Quando presente em produtos de origem animal, como o leite cru, essa bactéria não apenas compromete a integridade do alimento, como também representa um risco direto à saúde do consumidor, podendo disseminar genes de resistência (Castro; Castro; Lima, 2022).

Diante desse cenário, o antibiograma é uma ferramenta fundamental no monitoramento da suscetibilidade de microrganismos aos antimicrobianos. Esse teste orienta o uso racional de medicamentos veterinários, contribui para a contenção da RAM e ainda permite identificar padrões regionais de resistência em diferentes sistemas produtivos (Krewer *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2018). No contexto da pecuária leiteira capixaba, especialmente nas pequenas propriedades do interior, ainda são escassos os estudos voltados à avaliação da resistência bacteriana de *S. aureus* isolados de leite *in natura*.

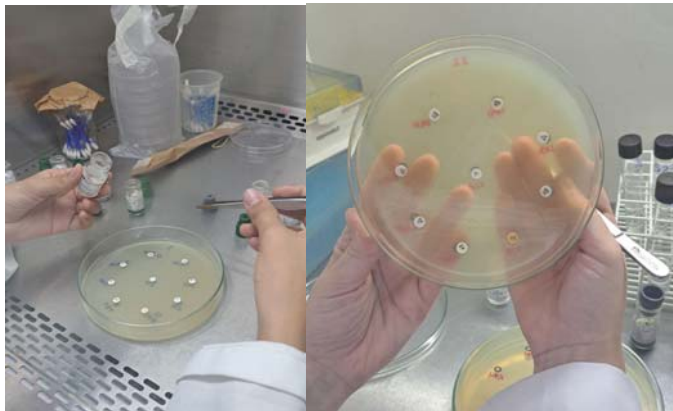
Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isoladas de amostras de leite *in natura* coletadas em pequenas propriedades rurais do interior do Espírito Santo, contribuindo para a caracterização da RAM nesse contexto produtivo e para a promoção de medidas de controle mais eficazes.

Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia Farmacêutica do Departamento de Farmácia e Nutrição da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus de Alegre. Foram avaliadas 10 amostras de leite *in natura*, adquiridas diretamente de pequenas propriedades rurais do interior do estado do Espírito Santo. As amostras foram coletadas em suas embalagens originais, sem qualquer tipo de processamento térmico ou industrial. Após a coleta, ainda no mesmo dia, os materiais foram acondicionados em recipientes adequados e transportados até o local de análise, sendo mantidos à temperatura ambiente durante o percurso.

O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (antibiograma) foi realizado pelo método de difusão em disco (Figura 1), de acordo com as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2024). Os 82 isolados de *Staphylococcus aureus*, previamente identificadas e selecionadas, foram cultivadas em meio adequado e ajustadas à turbidez correspondente à escala 0,5 de McFarland. Em seguida, as suspensões bacterianas foram semeadas com auxílio de swab estéril em placas contendo Ágar Mueller-Hinton. Discos de papel impregnados com antimicrobianos foram aplicados sobre a superfície do meio, e as placas foram incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Os antimicrobianos testados foram: cefoxitina (CFO), levofloxacina (LEV), eritromicina (ERI), rifampicina (RIF), tetraciclina (TET), gentamicina (GEN), sulfametoxazol-trimetoprima (SUT), penicilina G (PEN) e ciprofloxacina (CIP). Após o período de incubação, os halos de inibição ao redor dos discos foram medidos em milímetros, e os resultados interpretados segundo os pontos de corte estabelecidos pelo CLSI para *S. aureus*. A cepa *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle positivo para o experimento.

Figura 1 - Teste de susceptibilidade antimicrobiana realizado pelo método de difusão em disco (Kirby-Bauer), conforme diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2024).



Fonte: O autor, 2025.

Resultados

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos a partir da análise dos halos de inibição, apresentando os perfis de resistência (R), intermediários (I) e sensibilidade (S), bem como as médias dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano (em milímetros) observados frente aos principais antimicrobianos de uso comercial.

Tabela 1 - Resultados do teste de susceptibilidade antimicrobiana, apresentando os perfis de resistência (R), intermediário (I) e sensibilidade (S), bem como as médias dos diâmetros dos halos de inibição (mm) frente aos principais antimicrobianos de uso comercial.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Antimicrobiano	R	Média Halo (mm)	I	Média Halo (mm)	S	Média Halo (mm)
CFO	10	6,0	0	-	75	26,5
LEV	2	9,0	3	18,0	80	29,7
ERI	6	9,3	8	19,3	71	30,7
RIF	10	7,9	0	-	75	33,0
TET	22	8,1	5	17,2	58	26,9
GEN	1	12,0	2	13,5	82	27,0
SUT	3	4,0	2	13,0	80	29,2
PEN	50	19,3	0	-	35	37,8
CIP	0	-	0	-	85	31,1

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Legenda: R: Resistente; I: Intermediário; S: Sensível.

O antibiograma realizado com 85 isolados de *S. aureus* provenientes de amostras de leite cru evidenciou distintos perfis de susceptibilidade frente aos nove antimicrobianos testados. A maior frequência de resistência foi observada frente à penicilina (PEN), com 50 isolados (58,8%) classificadas como resistentes, apresentando média de halo de inibição de 19,3 mm — valor inferior ao ponto de corte para sensibilidade (≥ 29 mm), segundo critérios do CLSI (2024). A resistência à tetraciclina (TET) foi observada em 22 isolados (25,9%), sendo o segundo maior índice entre os antimicrobianos testados, com halo médio de 8,1 mm, além de cinco isolados classificados com susceptibilidade intermediária (média de 17,2 mm). Foram observadas 10 isolados bacterianos resistentes à cefoxitina (CFO) e 10 resistentes à rifampicina (RIF), correspondendo a 11,8% cada, com médias de halos de inibição de 6,0 mm e 7,9 mm, respectivamente.

Todos os isolados de *S. aureus* testados foram sensíveis à ciprofloxacina (CIP), com média de halo de 31,1 mm. Observou-se que apenas um isolado (1,2%) apresentou resistência à gentamicina (GEN) e três isolados (3,5%) à sulfametoxazol-trimetoprima (SUT). Foram observados dois isolados (2,4%) resistentes à levofloxacina (LEV) e seis isolados (7,1%) à eritromicina (ERI). Adicionalmente, um maior número de isolados (8) apresentaram sensibilidade intermediária a eritromicina.

Discussão

O uso de antimicrobianos na medicina veterinária resulta, com frequência, na sua excreção pelos animais, permitindo que esses compostos, juntamente com seus metabólitos, sejam liberados no ambiente. Devido à baixa taxa de degradação e à elevada capacidade de adsorção ao solo, essas substâncias podem persistir por longos períodos, favorecendo a seleção e disseminação de bactérias resistentes (Haffiez *et al.*, 2022).

Entre os isolados analisados, a penicilina apresentou o maior número de resistentes ($n = 50$), resultado possivelmente associado à produção de betalactamases (Rychshanova *et al.*, 2022).

Os isolados também apresentaram resistência relevante à tetraciclina (TET), com 22 classificados como resistentes e 5 com sensibilidade intermediária, apresentando médias de halos de 8,1 mm e 17,2 mm, respectivamente. Os achados deste estudo corroboram dados epidemiológicos que apontam elevada resistência à tetraciclina em *S. aureus* isolados de casos de mastite bovina, geralmente relacionada ao uso intensivo desse antimicrobiano nos sistemas de produção (Rychshanova *et al.*, 2022). Resultados semelhantes foram descritos por Lopes *et al.* (2022), em que 39% ($n = 16$) dos isolados de *S. aureus* ($n = 42$) demonstraram resistência à tetraciclina. Em contrapartida, Yang *et al.* (2023) analisaram 172 isolados e observaram frequência inferior de resistência, correspondente a 15,1% ($n = 26$).

Além disso, dez isolados de *S. aureus* apresentaram resistência à cefoxitina (CFO) e à rifampicina (RIF), com médias de halos de 6,0 mm e 7,9 mm, respectivamente, indicando fenótipos compatíveis com cepas resistentes à metilicina (MRSA), cujo monitoramento é recomendado pelo CLSI (2024).

Microrganismos resistentes a três ou mais dos antimicrobianos testados foram considerados MDR (multirresistentes). Destes, nove linhagens foram classificadas como MDR, resistentes a penicilina, rifampicina, tetraciclina e cefoxitina, evidenciando o risco de comprometimento das opções terapêuticas para mastite bovina e a potencial disseminação de genes de resistência no ambiente (Rychshanova *et al.*, 2022; Kang *et al.*, 2024).

Em contraste, as maiores atividades antimicrobianas foram observadas entre ciprofloxacina (CIP), com 100% (85) dos isolados sensíveis, seguido pela gentamicina (GEN) e sulfametoxazol-trimetoprima (SUT), com apenas um e três isolados resistentes, respectivamente. Esses achados estão alinhados a estudos prévios que demonstram elevada eficácia dessas classes de antimicrobianos frente a *S. aureus* de origem bovina (Cheng *et al.*, 2019). De forma semelhante, Bitencourt *et al.* (2018) relataram sensibilidade de 100% (n = 17) dos isolados de *S. aureus* à ciprofloxacina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprima.

A crescente ocorrência de bactérias resistentes configura um desafio global de saúde pública, frequentemente associada ao uso inadequado de antimicrobianos. Considerando que a saúde humana e animal é interdependente e diretamente relacionada à saúde dos ecossistemas, torna-se imprescindível uma abordagem interdisciplinar para o enfrentamento dessa problemática (Medina-Pizzali *et al.*, 2021). Nesse contexto, os resultados deste estudo reforçam a importância do manejo racional de antimicrobianos na pecuária leiteira, pautado na realização de testes de suscetibilidade, na restrição do uso profilático indiscriminado e na implementação de programas contínuos de vigilância microbiológica, medidas essenciais para conter a disseminação da resistência e preservar a eficácia terapêutica desses fármacos (Kang *et al.*, 2024).

Conclusão

O estudo evidenciou a ocorrência da resistência antimicrobiana em isolados de *Staphylococcus aureus* de leite *in natura* de pequenas propriedades do Espírito Santo, com destaque para a alta resistência à penicilina e a presença de isolados compatíveis com MRSA. A identificação de isolados multirresistentes reforça a necessidade de vigilância microbiológica e uso racional de antimicrobianos na produção leiteira. Ao mesmo tempo, a eficácia da atividade antimicrobiana para ciprofloxacina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprima, as colocam como opções terapêuticas que devem ser preservadas por meio de manejo responsável. A adoção de programas de monitoramento contínuo é importante para conter a disseminação da resistência e proteger a saúde animal e pública.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Estabelece os procedimentos para produção, acondicionamento, conservação, transporte, higienização, pasteurização e inspeção do leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Seção 1, p. 10.

BITENCOURT, L. L.; LEITE, M. C. T.; CAZAROTI, E. P. F.; BOTELHO, F. N.; GIUBERTI, K. C.; SILVA, V. B. P. Identificação e sensibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite. **Revista Ifes Ciência**, v. 4, n. 10, p. 133-142, 2018.

CASTRO, I. R. R. de; CASTRO, L. R. de; LIMA, A. C. S. Bactérias resistentes a antibióticos em ambiente aquático: efeito na produção animal. **Ciência Animal**, v. 32, n. 1, p. 84–99, 2022.

CHENG, J. *et al.* Antimicrobial resistance profiles of 5 common bovine mastitis pathogens in large Chinese dairy herds. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v. 102, n. 3, p. 2416-2426, mar. 2019.

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100**. 34th ed. Wayne, PA: CLSI, 2024.

FERREIRA, N. S. *et al.* Bacteriologia clínica: antibiograma na medicina veterinária. p. 127-146. In: SILVA, M. A. *et al.* (org.). **Tópicos Especiais em Ciência Animal XII**. Alegre, ES: CAUFES, 2023. 329 p.

HAFFIEZ, N. *et al.* A critical review of process parameters influencing the fate of antibiotic resistance genes in the anaerobic digestion of organic waste. **Bioresource Technology**, v. 354, p. 1-14, 2022.

KANG, H. J. *et al.* Prevalence of pathogens and antimicrobial resistance of isolated *Staphylococcus* spp. in bovine mastitis milk in South Korea, 2018-2022. **Journal of Veterinary Medical Science**, [S. l.], v. 86, n. 12, p. 1219-1226, 2024. DOI: 10.1292/jvms.24-0239.

KREWER, C. C. *et al.* Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 601-606, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500009>

LEMES, B. C. *et al.* Metodologia e manejo reprodutivo aplicado em bovinos leiteiros. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**, v. 4, n. 1, p. 153-172, 2022.

LOPES, T. S. *et al.* Species identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria associated with cow mastitis in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 42, p. e06958, 2022.

QUINN, P. J. *et al.* **Microbiologia veterinária essencial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. 196 p.

RIEDEL, S. *et al.* **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick & Adelberg**. 28. ed. Porto Alegre: AMGH, 2022. 880 p.

RYCHSHANOVA, R. *et al.* Antibiotic resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from dairy cows at the stage of subclinical mastitis in northern Kazakhstan. **Archives of Animal Breeding**, v. 65, n. 4, p. 439-448, 2022. DOI: 10.5194/aab-65-439-2022.

SHARMA, C. *et al.* Antimicrobial resistance: its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 1-27, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **GLASS report: global antimicrobial resistance and use surveillance system**. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>. Acesso em: 25 jul. 2025.

YANG, F.; SHI, W.; MENG, N.; ZHAO, Y.; DING, X.; LI, Q. Antimicrobial resistance and virulence profiles of staphylococci isolated from clinical bovine mastitis. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, e1190790, 29 jun. 2023.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), Edital nº 16/2024 TO 159/2025 e Edital nº 09/2024 TO: 1199/2024, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.