

BACTÉRIAS ISOLADAS DE COLOSTRO BOVINO: SENSIBILIDADE FRENTE A ANTIBIÓTICOS DE USO HUMANO

CAMILA DOS SANTOS CARDOZO¹; ROSANA BASSO KRAUS²; PEDRO RASSIER DOS SANTOS³; CRISTINA STUDZINSKI SVENSON⁴; MARISA CASTRO JARA⁵; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – *camilasc_pel@hotmail.com*

²Universidade Federal de Pelotas – *rosana_basso_kraus@hotmail.com*

³Universidade Federal de Pelotas – *rassier1907@gmail.com*

⁴Universidade Federal de Pelotas – *csvenson80@hotmail.com*

⁵Universidade Federal de Pelotas – *jaramarisa@hotmail.com*

⁶Universidade Federal de Pelotas – *pattsn@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O colostro bovino (CB) é o primeiro leite produzido pela vaca após o parto, rico em nutrientes como, imunoglobulinas (Ig), minerais, vitaminas, substâncias bioativas e nutrientes em forma altamente digerível além de grande potencial terapêutico (DZIK et al., 2017). Apesar dos benefícios do CB, o Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, proibiu expressamente seu uso para consumo humano até meados de 2017, quando foi revogado pelo Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017 (BRASIL, 1952; BRASIL, 2017).

A aprovação do consumo de alimentos produzidos a partir do colostro traz consigo benefícios e desafios relativos à saúde pública da população. Tendo em vista que o CB é considerado de qualidade, apenas, quando apresenta carga microbiana dentro dos limites estabelecidos e a concentração de Ig adequada (50 mg mL⁻¹, IgG) (PRITCHETT et al., 1994; MCGUIRK & COLLINS, 2004).

Estudos têm avaliado a contaminação microbiana e a concentração de Ig no CB, verificando o atendimento, quanto às especificações exigidas. Entretanto, nestes estudos o CB fornecido aos bezerros foi considerado de baixa qualidade e com contaminação de micro-organismos elevada (JOHNSON et al., 2007; MORRILL et al., 2012; PHIPPS et al., 2016; MELLADO et al., 2017). Isto é preocupante, visto que parte deste colostro poderia ser direcionado ao consumo humano.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar a sensibilidade de micro-organismos patogênicos isolados do colostro bovino a antibióticos de diferentes espectros de uso humano

2. METODOLOGIA

As amostras de CB foram obtidas em uma propriedade leiteira com animais da raça Jersey (n = 14), localizada na cidade de Capão do Leão, RS, Brasil. As amostras foram colocadas em recipientes de 500 mL previamente identificadas e armazenadas congeladas até o momento das análises.

A análise microbiológica foi desenvolvida de acordo com Saalfeld et al. (2013), com adaptações. O colostro bovino foi semeado nos meios de cultivo: ágar Chapman, ágar MacConkey e ágar Brain Heart Infusion. Em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C durante 72 h em aerobiose. Após esse período, os micro-organismos isolados foram identificados, utilizando a técnica de coloração de Gram e provas bioquímicas (Barrow & Feltham, 1993).

Os padrões de sensibilidade e resistência das amostras foram obtidos através de antibiogramas realizados de acordo com o método descrito por Kirby & Bauer (1966). As amostras foram preparadas em água estéril seguindo a escala de

MacFarland de $0,5 (1,5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1})$. Logo após, as amostras foram semeadas em ágar Mueller Hinton e ágar sangue (somente para as bactérias do gênero *Enterococcus*) e utilizou-se os antibióticos Vancomicina (30µg), Ampicilina + Sulbactam (10/10µg), Cefoxitina (30µg), Oxacilina (1µg), Amicacina (30µg) Cefuroxima (30µg), Ceftriaxona (30µg) e Meropenem (10µg). As amostras foram incubadas durante 24 h a temperatura de 36 °C e foram realizadas as leituras dos halos de inibição segundo BrCast (2023); CLSI (2023); NCCLS (2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos dos antibiogramas estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados de sensibilidade dos micro-organismos coletados

| Micro-organismo | VAN | ASB | CFO | OXA | CRO | AMI | MER | CRX |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | S | S | R | R | X | X | X | X |
| <i>Escherichia sp.</i> | X | X | X | X | R | S | R | S |
| <i>Enterococcus sp.</i> | S | S | R | R | X | X | X | X |
| <i>Staphylococcus intermedius</i> | S | S | S | R | X | X | X | X |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | R | R | R | R | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus durans</i> | R | R | R | R | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | S | S | R | R | X | X | X | X |
| <i>Staphylococcus lutrae</i> | R | S | S | S | X | X | X | X |
| <i>Escherichia sp.</i> | X | X | X | X | R | S | S* | R |
| <i>Enterococcus sp.</i> | S | S | R | S | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus durans</i> | S | S | S | R | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus durans</i> | S | S | R | R | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | S | S | S | R | X | X | X | X |
| <i>Staphylococcus lutrae</i> | S | S | S | S | X | X | X | X |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | R | S | R | R | X | X | X | X |
| <i>Klebsiella sp.</i> | X | X | X | X | S | S | S* | S |
| <i>Enterococcus sp.</i> | R | R | S | S | X | X | X | X |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | S | S | R | S | X | X | X | X |
| <i>Escherichia sp.</i> | X | X | X | X | S | S | S | S |

(X) Antibiótico não testado no respectivo micro-organismo devido não apresentar eficácia frente ao mesmo. (S) Sensível. (R) Resistente. (S*) Sensível aumentando exposição. (VAN) Vancomicina 30µg; (ASB) Ampicilina + Sulbactam 10/10µg; (CFO) Cefoxitina 30µg; (OXA) Oxacilina 1µg; (CRO) Ceftriaxona 30µg; (AMI) Amicacina 30µg; (MER) Meropenem 10µg; (CRX) Cefuroxima 30µg

Os antibiogramas realizados nas bactérias isoladas das amostras de CB demonstraram resultados variados de acordo com o micro-organismo testado. Em relação aos antibióticos testados para as bactérias gram positivas; Vancomicina e Ampicilina + Sulbactam apresentaram uma eficácia de 66,7% e 80%, respectivamente frente aos isolados bacterianos, em comparação, Cefoxitina e Oxacilina apresentaram menor eficácia de 40% e 33,3%, respectivamente. Para os antibióticos testados nos patógenos gram negativos se observam resultados igualmente variáveis onde; Amicacina apresentou uma eficácia de 100% frente aos testes, Cefuroxima e Meropenem apresentaram efetividade de 75%, enquanto Ceftriaxona apresentou menor resultado 50%.

Os resultados obtidos das enterobactérias frente aos antibióticos; Cefoxitina, Ampicilina e Meropenem foram semelhantes aos encontrados por Martins et al. (2021) que demonstrou a mesma variabilidade de resultados em relação aos

espectros antibacterianos. Em contrapartida, Kurt & Eşki (2021) observaram a eficácia da Ampicilina apenas nos micro-organismos da espécie *S. aureus*, o contrário do observado nos antibiogramas realizados no nosso trabalho que demonstraram a eficácia do medicamento em outras espécies de *Staphylococcus* (*S. intermedius* e *S. lutrae*).

Contudo, a maior eficácia da Amicacina nos testes realizados, foi também confirmada por Kurt & Eşki (2021). Cefuroxima, Ceftriaxona, Vancomicina e Oxacilina não apresentaram correspondência relevante em comparação aos resultados observados até o presente momento em relação aos patógenos presentes no CB.

4. CONCLUSÕES

Os resultados observados demonstram a capacidade de diferentes antibióticos atuarem frente aos micro-organismos isolados do CB. Das 19 bactérias, sete apresentaram resistência em relação a dois (50%) antibióticos, seis apresentaram resistência a um (25%) antibiótico, dois apresentaram resistência a todos antibióticos (*S. aureus*; *E. durans*), e um exibiu resistência em relação a três (75%) dos medicamentos testados. Apenas um dos micro-organismos (*S. lutrae*) apresentou uma sensibilidade para todos antibióticos testados. O que evidencia a necessidade de estudos sobre o melhor processamento do colostro pra garantir a segurança do uso de um produto de qualidade para o consumo humano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, n. 4, p. 493–496, 1966.

BRASIL. **Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952**. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília, 29 mar. 1952. [https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1950-1959/decreto-30691-29-marco-1952-339586-norma-atualizada-pe.pdf](https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1950-1959/decreto-30691-29-marco-1952-339586-norma-1952-339586-norma-atualizada-pe.pdf)

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, 29 mar. 2017. https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm

BRCAST. **Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima**. Acessado em 7 set. 2023. Online. Disponível em: <https://www.dme.ind.br/bulas-3/>

CLSI. **Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima**. Acessado em 7 set. 2023. Online. Disponível em: <https://www.dme.ind.br/bulas-3/>

DZIK, S. et al. Properties of bovine colostrum and the possibilities of use. *Polish annals of medicine*, v. 24, n. 2, p. 295–299, 2017.

KIRBY, W. M. et al. Clinical usefulness of a single disc method for antibiotic sensitivity testing. *Antibiotics annual*, p. 892-897, 1956.

Kurt, S. & Eşki, F. Pathogen isolation and antibiogram analysis in dairy cows with clinical mastitis in Adana region, **Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi**, Turkey, p. 20-26, 2021.

Martins, F. A. et al. Características físico-químicas e perfil microbiano do leite de transição bovino in natura e fermentado em diferentes períodos. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, 15(4), p. 388–395, 2021.

MCGUIRK, S. M. & COLLINS, M. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 20, p. 593-603, 2004.

NCCLS. **Normas de Desempenho para Testes de sensibilidade antimicrobiana**. Acessado em 7 set. 2023. Online. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/metodo_ref_testes_diluicao_modulo4.pdf

PHILLIPS, I. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. **Journal of Clinical Pathology**, v. 46, n. 10, p. 975, 1993.

PRITCHETT, L. C.; GAY, C. C.; HANCOCK, D. D.; BESSER, T. E. Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentrations in Holstein colostrum. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1761-1767, 1994.

SAALFELD, M. H. et al. Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. **Ciência Rural**, v. 43, n. 9, p. 1636–1641, 1 set. 2013.

SILVA, E. G. dos S. O., RANGEL, A. H. do N., MÜRMAM, L., BEZERRA, M. F., & OLIVEIRA, J. P. F. de. Bovine colostrum: benefits of its use in human food. **Food Science and Technology**, 39, 355–362, 2019.